Capítulo 23

Respuesta inmunológica a bacterias

• Oscar Bottasso Lazareschi

Introducción

Contenido del capítulo

Los mecanismos de defensa que se ponen en marcha ante la variada gama de microorganismos patógenos con los que una persona entra en contacto durante su vida involucran una serie de estrategias aprendidas a lo largo de la evolución, mismas que han permitido la perpetuación del ser humano en la Tierra. En este contexto, resulta claro que las enfermedades infecciosas han sido las grandes propulsoras del desarrollo del sistema inmunológico y de todas las estrategias puestas en juego con el fin de superar la amenaza que acarrea la infección.

El contacto con un microorganismo patógeno no implica que forzosamente se produzca una infección, dado que el ser humano cuenta con barreras naturales muy efectivas para impedir la adherencia y penetración de tales microbios. En esta interacción cumplen un papel muy relevante la integridad de la piel, las secreciones que recubren los epitelios mucosos, la saliva, el jugo gástrico, las lágrimas, la orina (por su pH ácido y acción de arrastre), la secreción sebácea y sudorípara, así como la tos, el vómito y la diarrea. También se destaca la elevación de la temperatura y el consecuente establecimiento de un ámbito desfavorable para el desarrollo de muchos microorganismos, a la par de la alta tensión del oxígeno pulmonar que contribuye a inhibir el desarrollo de gérmenes anaerobios.

No obstante, muchos microorganismos son capaces de evadir estos mecanismos y consiguen infectar al hospedero; de ese modo provocan que se activen diversas acciones defensivas de la respuesta inmunológica innata. Dichos eventos se inician con la misma infección y, en definitiva, tratan de controlar el proceso infeccioso o de delimitar el mismo hasta que se desarrolle una respuesta inmunológica específica, la cual puede ser sobrepasada en el caso de una infección por patógenos con gran capacidad invasora.

La respuesta inmunológica innata está provista de receptores para reconocer estructuras que comparten numerosos microorganismos, desencadenar mecanismos efectores que permitan eliminar agentes patógenos en un corto periodo y dirigir el desarrollo de una respuesta inmunológica adaptativa apropiada para el tipo de microbio en cuestión, lo que en definitiva permitirá eliminar las formas más persistentes. Los mecanismos que intervienen en estos procesos pueden estar mediados por anticuerpos o por linfocitos.

Estos mediadores humorales y celulares no son independientes, ya que están interrelacionados y en ellos participan distintos tipos celulares

que funcionan por contacto directo o bien por medio de productos secretados.

Por lo complejo de la relación entre patógeno y hospedero, el proceso infeccioso puede tener una evolución distinta: la menos deseable es que se produzca la muerte del individuo y, en el otro extremo, una resolución *ad integrum* o bien con ciertas secuelas. Cuando se da incapacidad para eliminar el germen, el individuo puede ser portador asintomático con cierta repercusión orgánica y, a veces, una franca cronicidad de la infección. En estas circunstancias es muy probable que exista daño tisular y repercusión funcional.

RESPUESTA A LAS BACTERIAS EXTRACELULARES

La denominación *bacteria extracelular* incluye gran variedad de microorganismos, cuya característica esencial reside en su capacidad para replicarse en el compartimiento extracelular; es decir, el tejido conectivo o bien la luz de los diversos tractos del organismo (respiratorio, gastrointestinal y genitourinario). Su acción patógena puede sintetizarse en dos procesos fundamentales: la inducción de respuestas inflamatorias con destrucción de los tejidos en los que se reproducen los gérmenes por la producción de toxinas que forman parte de la membrana celular (llamadas endotoxinas, como el LPS de las bacterias gramnegativas), o por aquellas que son secretadas al medio, denominadas exotoxinas.

Las enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* son cinco proteínas serológicamente diferenciables que, por su capacidad de unirse de modo directo a ciertas familias de las cadenas Vβ del TCR, estimulan un importante número de linfocitos T, y por eso se denominan *superantígenos*.

Una vez que el patógeno consigue adherirse a la superficie de la célula, la invasión a los tejidos puede llevarse a cabo mediante la producción de proteasas que digieren la matriz extracelular. Otro mecanismo de invasión se da cuando el patógeno ingresa al compartimiento intracelular por medio de los mecanismos fagocíticos naturales de los macrófagos y los leucocitos polimorfonucleares (PMN) que tratan de promover su destrucción, aunque los patógenos encapsulados llegan a evadir este mecanismo de contención.

Con base en lo anterior, la respuesta inmunológica específica por lo general es la encargada de la depuración de las bacterias y la neutralización de las sustancias tóxicas. Dado que estas bacterias residen en especial fuera de las células y las toxinas ejercen su acción en el mismo sitio o viajando a través de la sangre, la respuesta inmunológica humoral aparece como el elemento primordial de la respuesta protectora. A pesar de que las paredes de algunos de estos microorganismos contienen polisacáridos (que como antígenos timo independientes estimulan en forma directa a los linfocitos B con producción de IgM), casi todos los antígenos bacterianos son proteínicos, por lo que requieren el procesamiento y posterior presentación en el contexto molecular del MHC II por parte de los macrófagos que fagocitaron y destruyeron la bacteria en cuestión. De ese modo se consigue la activación de linfocitos Th que dirigen la expansión y diferenciación de linfocitos B, con la consecuente producción de los diferentes isotipos de anticuerpos. Los anticuerpos confieren protección hacia este tipo de infecciones, sobre todo por medio de cuatro tipos de acciones que se describen en seguida.

Producción de anticuerpos IgG opsonizantes

Muchos microorganismos presentan factores en su superficie que retardan la fagocitosis. Las opsoninas son anticuerpos que se ligan a la superficie bacteriana y favorecen su fagocitosis, ya que por su fragmento Fc se unen al receptor para éste que se encuentra en los monocitos, macrófagos y PMN. Dichas células son atraídas al sitio por factores quimiotácticos presentes en las bacterias o fracciones del complemento como la C5a. Luego de la quimiotaxis sobreviene la unión de los fagocitos con la bacteria, mediada por interacciones moleculares entre lectinas del microorganismo con otras de la superficie celular, o bien entre factores del complemento (C3b, iC3b) y sus correspondientes receptores (CR1 y CR3). La incorporación a la célula va seguida en la mayor parte de los casos de muerte microbiana, que se produce por los mecanismos destructivos vinculados a la producción de las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y las especies reactivas de nitrógeno (NOS, por sus siglas en inglés) (véase Recuadro 23-1) o la síntesis de defensinas. Las defensinas son péptidos catiónicos presentes en los PMN que forman conductos en las bicapas lipídicas de las bacterias y resultan en particular efectivos en la destrucción de *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.

La unión del fagosoma con los lisosomas presentes en las células fagocíticas brinda una posibilidad adicional para la destrucción bacteriana, ya que los lisosomas poseen lisozima (la cual daña las paredes de patógenos grampositivos), así como lactoferrina,

Recuadro 23-1. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (NOS) en la respuesta inmunológica

La capacidad bactericida de los macrófagos, los PMN y otras células fagocíticas radica en la capacidad de estas células para generar ROS y NOS, que son tóxicos para gran variedad de patógenos. La producción de intermediarios de oxígeno reactivo (ROI) está dirigida por la enzima NADPH oxidasa, la cual se activa por la presencia de LPS y lipoproteínas, la unión de IgG a los receptores para el Fc de la membrana celular, y citocinas como el IFN-γ o la IL-8. Los productos que se originan son el anión superóxido (O^{2-}), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH) y anión hidroxilo (OH^-). Todos estos productos ejercen una acción antimicrobiana hacia las bacterias extracelulares fagocitadas, aunque su efectividad es limitada en el caso de las bacterias intracelulares.

En cuanto a la producción de los NOS, el compuesto fundamental es el NO, cuya síntesis está mediada por la enzima NO sintetasa (NOS). En la actualidad se conocen tres isoformas mayores de esta enzima, dos de ellas son constitutivas, la neuronal y la endotelial (NOS-1 y NOS-3, respectivamente), mientras que la restante es inducible y se localiza sobre todo en las células inmunocompetentes. En gran medida, los macrófagos expresan iNOS-2 y se valen de este metabolito para la destrucción de patógenos intracelulares. Dentro de los macrófagos, la iNOS-2 es inducida por diversos estímulos inmunológicos, entre éstos la presencia de citocinas, como el IFN-γ y el TNF-α. En contraposición, algunos mediadores, como la IL-4, IL-10, IL-13 y el TGF-β, inhiben la iNOS-2 y, en consecuencia, la producción de NO.

Además de sus efectos bactericidas, en la actualidad se sabe que los ROS y NOS son moléculas que participan en la respuesta inmunológica de forma equivalente a las citocinas, en la sobrevida o la muerte celular, y en el daño tisular que coexiste con la reacción inflamatoria.

que reduce la biodisponibilidad de hierro para las bacterias.

Tanto los anticuerpos de clase IgG como la IgM son activadores de la vía clásica del complemento, por lo que su participación en el reconocimiento bacteriano genera C3b y C3bi, que al fijarse a los receptores expresados en las células fagocíticas también promueven la fagocitosis. Las inmunoglobulinas más efectivas para la fijación y activación del complemento son las IgG1, IgG3 e IgM. Las infecciones en las cuales su resolución se halla ligada a este mecanismo comprenden aquellas ocasionadas por neumococos, meningococos, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *Bacillus anthracis*.

Neutralización de exotoxinas

En ciertos casos, los microorganismos tienen una baja capacidad invasora, por lo que las manifestaciones de la enfermedad están vinculadas a los efectos que producen las toxinas secretadas. Las infecciones en las que los anticuerpos se ligan a las toxinas y bloquean su unión a las células blanco incluyen las ocasionadas por *Vibrio cholerae* (enterotoxina que induce la secreción de sales hacia la luz intestinal), *E. coli* (enterotoxina), *Shigella dysenteriae* tipo I (neurotoxina que ocasiona meningismos y también puede producir diarrea), *Clostridium botulinum* (neurotoxina que bloquea la liberación de acetilcolina en la placa neuromuscular), *Clostridium tetani* (toxina con acciones pre y postsinápticas que provoca contracciones espásticas), *Clostridium perfringens* (toxinas diversas como fosfolipasa, colagenasa, hemolisina, proteinasa y DNAsa), *Corynebacterium diphtheriae* (toxina que bloquea la síntesis proteica y desarrolla efectos cardio y neurotóxicos), *S. pyogenes* (toxina eritrógena a nivel cutáneo) y *S. aureus* (exfoliatina que produce desprendimiento de los desmosomas entre las células granulares de la epidermis).

Inhibición de la adherencia a las células epiteliales

Este mecanismo involucra la participación de los anticuerpos secretorios del tipo IgA, que son efectivos para impedir la adherencia de agentes patógenos, como el *V. cholerae* y algunas especies de *Shigella* y *Salmonella*, a las células de los epitelios. Lo mismo sucede en bacterias que causan infecciones del tracto respiratorio.

Activación de la vía clásica del complemento por IgG e IgM

En teoría, la activación del complemento en presencia de anticuerpos específicos y la formación del

complejo de ataque a la membrana bacteriana es un mecanismo importante en la inmunidad a infecciones por agentes extracelulares. Sin embargo, sólo algunas bacterias, como las *Neiserias*, son susceptibles debido a la implementación de mecanismos de evasión. Más allá de la acción lítica directa, la activación del complemento desempeña también una acción proinflamatoria a raíz de la liberación de mediadores con acción quimiotáctica y anafilotáxica como C3a y C5a, que se forman tras la ruptura de algunos de sus componentes, entre éstos C3 y C5, respectivamente (véase Recuadro 23-2).

Respuesta inmunológica a bacterias intracelulares

Las bacterias de vida intracelular comprenden un grupo heterogéneo de agentes patógenos que pueden separarse en dos grandes tipos: a) microorganismos cuyo hábitat intracelular no es totalmente esencial, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium leprae*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, Brucelas, *Legionella pneumophila* y *Listeria monocytogenes*, y b) bacterias intracelulares obligatorias, que incluyen, entre otras, las ricketsias, la *Coxiella burnetii* y la *Chlamydia trachomatis*. Estos últimos agentes no subsisten fuera de las células y, si bien infectan a los macrófagos, también pueden residir dentro de células endoteliales y epiteliales. En el caso de las bacterias intracelulares obligadas cuya entrada no es por fagocitosis sino por invasión, encuentran un hábitat ideal para su subsistencia debido a la baja actividad antibacteriana en el interior celular.

En este sentido, vale la pena señalar que algunas bacterias que no son intracelulares obligadas también pueden invadir células fagocíticas no profesionales, como es el caso del *M. leprae* en las células de Schwann y la *L. monocytogenes* en los hepatocitos. Las principales estrategias defensivas se resumen en la Figura 23-1.

Una vez que se ha efectuado la fagocitosis del microorganismo, las células fagocíticas profesionales (monocitos/macrófagos) proceden a la destrucción bacteriana por medio de la producción de sustancias tóxicas como las ROS y NOS. Dentro del fagosoma se producen cambios en el pH que de ser básico (ideal para la destrucción de las bacterias) se torna ácido y favorece la fusión con los lisosomas. La función más importante de estos últimos es la degradación enzimática de las bacterias destruidas, así como la provisión de lactoferrina que secuestra hierro. Múltiples tipos de bacterias impiden la formación de los fagolisosomas; algunos ejemplos de este comportamiento son *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *S. typhi*, *S. typhimurium* y *L. pneumophila*, en tanto que otros han desarrollado estrategias para escapar al citoplasma, por ejemplo *L. monocytogenes* y *M. leprae*. Ambos procesos constituyen estrategias de evasión a la destrucción por parte de las células fagocíticas profesionales.

Recuadro 23-2. Complemento

El complemento es un conjunto de proteínas presentes en el plasma y otros fluidos corporales que posee una acción esencial tanto en la eliminación de microorganismos como en la fagocitosis de los mismos. Los factores del complemento se hallan inactivos en el plasma y, al activarse, lo hacen en forma secuencial; es decir, cada proteína activa al componente que le sigue. Ello da a lugar a moléculas con acciones quimiotáxicas, inflamatorias, citotóxicas y, en algunos casos, también antimicrobianas. Las acciones que pueden mediar los componentes del complemento activado incluyen: a) liberación de mediadores inflamatorios, por ejemplo C3a y C5a, que se desempeñan como anafilotoxinas; b) las anafilotoxinas C3a y C4a, las cuales también exhiben actividad antimicrobiana; c) opsonización de superficies extrañas con el producto de activación C3b, que así pueden ser reconocidas y removidas por fagocitosis; d) la generación del complejo de ataque a membrana (MAC); e) cooperación para el montaje de la respuesta adaptativa, y f) coordinación de la remoción de detritos celulares y células apoptóticas o necróticas e inmunocomplejos.

La activación del complemento se lleva a cabo por medio de tres vías, la clásica (inmunidad adaptativa), la alterna y la de las lectinas (inmunidad innata). Todas comprenden tres fases; la primera, de iniciación, en la que se producen las señales de reconocimiento que disparan el proceso; luego viene la fase de amplificación, que activa el C3, para culminar con la fase de formación del complejo de ataque a la membrana y la generación de poros en la membrana del microorganismo, que median la lisis de éste.

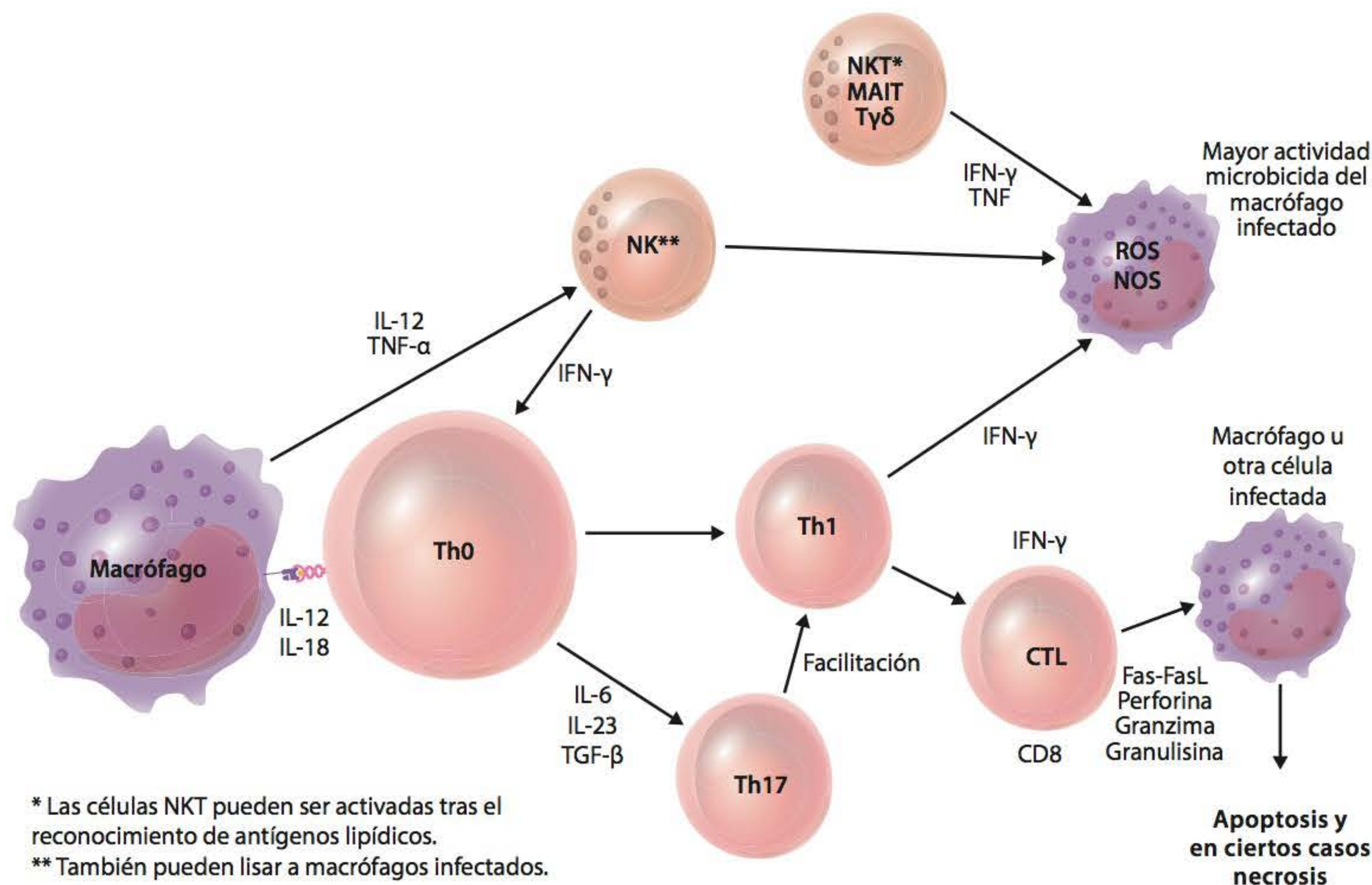


Figura 23-1. Respuesta inmunológica hacia patógenos intracelulares.
Los mecanismos inmunológicos adaptativos que participan en la contención a patógenos intracelulares involucran la activación de los macrófagos para que se tornen menos permisivos al crecimiento bacteriano como así también la generación de linfocitos citotóxicos, los cuales pueden destruir a los macrófagos infectados con la consecuente eliminación de la célula nicho.

En cuanto a los mecanismos inmunológicos que participan en la resistencia a las infecciones por micobacterias, es posible analizar por separado aquellos que involucran los eventos de reconocimiento y los que están implicados en la resolución de la infección y el desarrollo de resistencia a largo plazo. Lo mismo *M. tuberculosis* que *M. leprae* son bacterias de crecimiento intracelular que se replican dentro de los macrófagos tisulares; es por ello que la respuesta inmunológica favorece la activación de los macrófagos para que se tornen menos permisivos al crecimiento bacteriano, así como de los linfocitos Tc que reconocen los macrófagos infectados, con la consecuente eliminación de la célula hospedera.

Según se mencionó antes, la activación de macrófagos hace que aumente la síntesis de ROS y NOS, los cuales ejercen acción tóxica sobre las micobacterias presentes en su interior. Este proceso se ha demostrado en macrófagos murinos, pero no ha sido confirmado por completo en macrófagos humanos, pues la acción tuberculostática no es tan evidente, a menos que se adicione 1,25-dihidroxivitamina D en el cultivo. Se ha descrito que los macrófagos presentan una actividad hidroxilasa sobre la vitamina D, la cual, a su vez, es estimulada por el IFN-γ, lo que explicaría la discrepancia entre el bajo efecto inhibidor *in vitro* con la evidente protección que se detecta en los estudios *in vivo*. Además, la presencia de TNF-α e IFN-γ contribuye al desarrollo de la reacción granulomatosa, que es un elemento fundamental para la contención de la infección micobacteriana (véase Recuadro 23-3).

El TNF-α también es sintetizado en forma autocrina por los macrófagos ante la infección por micobacterias. Al igual que el IFN-γ, el TNF-α es una citocina lo mismo protectora que inmunopatológica en individuos con tuberculosis. Los ratones deficientes en TNF-α o su receptor mueren de una enfermedad diseminada con granulomas desorganizados. Por otro lado, la terapia anti-TNF-α favorece la reactivación del cuadro clínico en formas extrapulmonares y formas diseminadas.

Algunas citocinas, como la IL-12, IL-18 e IL-23, son importantes inductoras de la producción de IFN-γ. Los ratones deficientes en IFN-γ desarrollan una enfermedad diseminada ante la infección con *M. tuberculosis*. Asimismo, los individuos con mutaciones en los genes *IFN-GR1* o *IFN-GR2* (que codifican para los receptores IFN-γR1 y γR2, respectivamente) o componentes de la vía intracelular de IFN-γ, como

Recuadro 23-3. Reacción granulomatosa

Los granulomas son reacciones inflamatorias localizadas. En el caso de los granulomas desarrollados en respuesta a la presencia de micobacterias, predominan linfocitos T y macrófagos fusionados (células gigantes multinucleadas) o diferenciados a células epitelioides, que en su conjunto representan una forma de hipersensibilidad retardada. También se identifica la presencia de células DC, linfocitos Tγδ y NKT. El granuloma tiene como objetivo contener la infección por micobacterias, las cuales, si bien no consiguen diseminarse, pueden sobrevivir en un medio ambiente hostil por medio de su capacidad de permanecer en un estado quiescente. Los linfocitos Th1 promueven la activación de las células que llegan a la zona de inflamación, en tanto que los linfocitos Tc eliminan los macrófagos infectados. En la infección por tuberculosis puede observarse un centro de necrosis caseosa. Aunque esta reacción granulomatosa se dirige a proteger al hospedero, en algunas ocasiones provoca daño tisular.

la proteína STAT1, desarrollan una enfermedad letal ante la vacunación con BCG. El IFN-γ es la principal molécula para la activación de los macrófagos y, junto con el TNF-α, estimula la producción de iNOS-2, que deriva en altos niveles de NO, el cual es bactericida para *M. tuberculosis* en ratones. El IFN-γ también induce la expresión de LRG-47, una GTPasa que induce la lisis de *M. tuberculosis* por parte de los macrófagos de modo independiente a la producción de NO. Junto con el IFN-γ, el LRG-47 induce autofagia en los macrófagos, con lo cual inhibe la sobrevida intracelular de *M. tuberculos*is.

Respecto a la función citotóxica, si bien las células implicadas en la lisis son los linfocitos Tc, los linfocitos Th también pueden hacerlo en determinadas circunstancias, sobre todo cuando son mantenidos en cultivo por tiempos prolongados o tras la exposición a concentraciones elevadas de IL-2 durante la estimulación de los linfocitos Th *in vitro*. En el transcurso del proceso normal de activación y diferenciación de las células Th *in vivo*, los genes para la perforina y granzimas no están activos para la transcripción, lo cual sugiere que no se trata de una propiedad típica de tales células. En condiciones en las que se eliminan los linfocitos Tc, los linfocitos Th pueden diferenciarse *in vivo* en células efectoras con actividad lítica. El significado de los linfocitos Th con función citotóxica no está del todo claro, pero se cree que pueden regular la respuesta inmunológica al eliminar células que expresan MHC II, como las células presentadoras de antígenos (APC).

El mecanismo mediante el cual los antígenos derivados del fagolisosoma pueden alcanzar la vía de presentación en el contexto del MHC I para sensibilizar a los linfocitos Tc ha sido motivo de varias especulaciones. Si bien se han descrito formas de presentación no convencionales, es un hecho que muchas bacterias intracelulares son capaces de inducir apoptosis de las células donde se alojan, lo que permite que, en un proceso denominado eferocitosis, los restos apoptóticos sean fagocitados después por las APC, entre éstas macrófagos y células dendríticas, las cuales han demostrado su capacidad de presentar en el contexto molecular del MHC I los antígenos bacterianos a los linfocitos Tc específicos. El mecanismo por el cual los linfocitos Tc producen la eliminación de los macrófagos infectados comprende los eventos clásicos de las células citotóxicas (gránulos de perforinas y granzimas) o la inducción de apoptosis por medio de la interacción Fas-FasL. Tras la eferocitosis a cargo de APC no infectadas (macrófagos y células dendríticas), ese material ingresa a la vía lisosomal para su degradación.

Si bien no existe un acuerdo unánime respecto a los efectos positivos de la apoptosis en la infección por tuberculosis, es evidente que ello destruye el hábitat de la micobacteria. Uno de los mecanismos de evasión utilizado por las micobacterias es la inhibición del proceso apoptótico mediante la liberación de lípidos de la pared celular, como el lipoarabinomanano. Si se produjera una forma de muerte de la célula hospedera que implicara la liberación de patógenos, éstos podrían ser recapturados por células fagocíticas preactivadas por las citocinas presentes *in situ*, lo cual implicaría un mayor potencial destructivo sobre el patógeno ingerido y crearía un ambiente de mayor hostilidad para el mismo.

La participación de los linfocitos Tc en el control de la infección por micobacterias también se pone en evidencia por los estudios en ratones deficientes en β_2-microglobulina, los cuales sucumben con rapidez al desafío con *M. tuberculosis*. Además de los mecanismos descritos, los linfocitos Tc contribuyen al desarrollo de una respuesta inmunológica protectora

hacia la micobacteria mediante la acción de la granulisina, una molécula que también es secretada por linfocitos T γδ que reconocen lípidos y glicolípidos de *M. tuberculosis* en el contexto molecular del CD1. Esta proteína ingresa al macrófago a través del *canal* hecho por la perforina y desempeña una acción tóxica sobre la micobacteria. La granulisina es tóxica para *M. tuberculosis* y otros microbios, incluidos bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos y protozoarios. De momento no se ha detectado un homólogo en el ratón de la granulisina.

Asimismo, los linfocitos Tc específicos para antígenos de *M. tuberculosis* pueden producir importantes cantidades de IFN-γ, lo que está en concordancia con postulados que establecen la existencia de una contrapartida de linfocitos Tc1 para esta subpoblación de linfocitos T.

Reportes recientes demuestran que los linfocitos Th también expresan granulisina, por lo que podría ser un candidato como marcador de la respuesta inmunológica ante la infección tuberculosa.

Otra población linfocitaria importante en la respuesta inmunológica ante las micobacterias son las células NK, que pueden liberar IFN-γ en respuesta al estímulo por el TNF-α y la IL-12 secretada por los macrófagos. La siguiente fuente de producción de IFN-γ la constituyen los linfocitos Th y los Tc como parte del desarrollo de la respuesta inmunológica específica que sobreviene a raíz del reconocimiento de los antígenos micobacterianos en el contexto molecular del MHC I o II, respectivamente.

Otro mecanismo celular que toma parte en la respuesta contra microorganismos involucra la participación de formas de presentación antigénica no convencionales por un tipo de moléculas denominadas CD1 presentes en las DC. Las mismas comprenden dos grupos: CD1a, b, c o tipo I, y CD1d o tipo II. Las pertenecientes al primer grupo están involucradas en la presentación de glicolípidos de la pared de las micobacterias a linfocitos TCR αβ doble negativas o bien Tc. La activación de estas células se traduce en la liberación de IFN-γ, así como en la promoción de efectos citotóxicos hacia células que expresan los mismos antígenos micobacterianos. Las moléculas del grupo II participan en la presentación de antígenos a los linfocitos NKT que también son productores de IFN-γ.

Al igual que la destrucción producida por linfocitos T sobre los macrófagos infectados en los granulomas, estudios *in vitro* demuestran que las células NK pueden lisar macrófagos infectados por una serie de bacterias intracelulares, como *S. typhimurium*, *M. avium/intracellulare* y *L. pneumophila*. También se describió una población de células T invariantes asociadas con las mucosas capaces de reconocer antígenos glicolipídicos bacterianos, presentados en el contexto de moléculas relacionadas con los MHC I.

En modelos murinos se ha descrito que la acumulación de citocinas pro o antiinflamatorias puede contribuir a la polarización de las respuestas Th1 y Th2; sin embargo, este fenómeno no parece ser frecuente en la patología infecciosa humana. Los datos más aproximados a esta situación han sido aportados por estudios inmunoquímicos en biopsias de piel con formas polares de enfermos de lepra; dichos estudios han puesto en evidencia que en los pacientes con la forma tuberculoide de la enfermedad (de alta resistencia) predominan los linfocitos Th1, mientras que en las formas lepromatosas se detectan sobre todo linfocitos Th2 o Tc productores de IL-4 (véase Tabla 23-1).

MECANISMOS DE EVASIÓN

La relación entre los microorganismos y su hospedero posee una dinámica en la cual el patógeno implementa estrategias para evadir el reconocimiento del hospedero, en tanto que este último procura prevenir y erradicar la infección con el menor daño a los tejidos afectados. La capacidad de los patógenos para evadir la respuesta inmunológica del hospedero les sirve para replicarse y persistir, con lo que establecen una infección crónica. Los mecanismos de evasión son variados y los microorganismos más eficientes son los que trascienden por su capacidad infecciosa.

Algunos agentes patógenos secretan una serie de proteasas capaces de unirse y degradar a C3 y otros componentes del complemento. Por ejemplo, la aureolisina, una metaloproteasa de *S. aureus* que se une a C3 y de ese modo impide la activación del complemento, al mismo tiempo que inhibe el depósito de C3d, la opsonización y la fagocitosis, así como la destrucción bacteriana por parte de los PMN.

Los microorganismos también pueden unirse a proteasas plasmáticas o a sus precursores, lo que inhibe su función. Un ejemplo de ello es la estreptoquinasa de *S. pyogenes* que se une al plasminógeno y genera plasmina, para después unirse y degradar a C3, con lo cual imposibilita que cumpla las funciones efectoras mediadas por este factor. Del mismo modo en que *S. pyogenes* cuenta con cinco proteínas capaces de ligar plasminógeno, *Borrelia burgdorferi* expresa al menos otras siete, mientras que *C. albicans* posee un total de 11 proteínas con esta capacidad. Por otro lado, es sabido que las proteínas M de *S. pyogenes* y las proteínas A de *S. aureus* pueden

Tabla 23-1. Mecanismos de protección ante la infección por bacterias

Hábitat del patógeno	Tipo de respuesta	Patógeno
Bacterias extracelulares	• Anticuerpos opsonizantes	Neumococos, meningococos, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. anthracis*
	• Neutralización de exotoxinas	*V. cholerae*, *E. coli*, *S. dysenteriae* tipo I, *C. botulinum*, *C. tetani*, *C. perfringens*, *C. diphtheriae*, *S. pyogenes*, *S. aureus*
	• Inhibición de la adherencia	Enterobacterias y bacterias del tracto respiratorio
	• Activación del complemento	Variada gama de microorganismos
Bacterias intracelulares	• Activación de los macrófagos para que se tornen menos permisivos al crecimiento bacteriano • Generación de linfocitos citotóxicos que eliminarán la célula infectada	*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. leprae*, *S. typhi*, *S. paratyphi*, Brucelas, *L. pneumophila*, *L. monocytogenes*; ricketsias, *C. burnetii*, *C. trachomatis*

bloquear la vía clásica del complemento al ocupar los sitios utilizados por la IgG para llevar a cabo esta función.

También se conoce que una proteína de *S. aureus* influye la acción efectora del complemento mediante su capacidad para unirse a C3d y, de esta forma, de alterar la interacción de este factor con CR2.

Otra molécula del sistema complemento que es blanco de los mecanismos de evasión es C5, la cual es afectada por las proteínas que secreta el estafilococo (superantígenos) que se une a C5 y bloquea la ruptura que habitualmente lleva a cabo la convertasa de C5. De forma análoga, una enzima de *S. pyogenes* (GAPDH) se une a C5a y, en conjunto con una peptidasa del patógeno, degrada a C5a.

Algunos microorganismos, como *B. burgdorferi*, *Leptospira interrogans*, *S. pyogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*, también son capaces de inhibir la convertasa de C5, con la consecuente inhibición en la formación del complejo de ataque a membrana.

La interferencia en la acción del complemento también se puede dar mediante la unión de la vitronectina con una amplia gama de bacterias gramnegativas y grampositivas. Esta molécula constituye un inhibidor soluble de la formación del MAC, ya que se une y bloquea el sitio de unión a la membrana C5b-7 y la polimerización de C9. Entre los patógenos que poseen la propiedad de unirse a la vitronectina se incluyen las gramnegativas (como *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *P. aeruginosa*), mientras que en el caso de las grampositivas están *S. aureus*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*.

Dentro de la amplia gama de estrategias de evasión existen mecanismos que bloquean el reconocimiento de los PAMP presentes en el patógeno. Un ejemplo típico es la cápsula de polisacáridos, la cual impide el reconocimiento de estructuras de las bacterias. Algunos patógenos que utilizan esta estrategia son *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus* sp. y *Cryptococcus neoformans*. En este mismo sentido, las bacterias pueden alterar la composición de ciertas estructuras para evitar su reconocimiento por los PRR. Por ejemplo, *Helicobacter pylori*, *S. typhimurium* y las yersinias sobrellevan una modificación química en el LPS que no permite al TLR-4 detectarlo. Por su parte, *Campylobacter jejuni*, *H. pylori* y *Bartonella bacilliformis* producen flagelos que evaden el reconocimiento por TLR-5.

Varios patógenos pueden evitar la fagocitosis debido a que se trata de microorganismos de gran tamaño y, por lo tanto, es difícil que sean captados. El caso contrario es cuando tienen una dimensión reducida, como *S. pneumoniae*, el cual puede evadir la fagocitosis al minimizar la cantidad de complemento depositado en su superficie y, de ese modo, sortea la opsonización.

Las bacterias grampositivas del género *Streptococcus* y *Staphylococcus* no sólo son capaces de evadir el complemento, sino también de impedir el reclutamiento y la activación de células fagocíticas, y de resistir la actividad microbicida mediada por ROS y NOS, lo mismo que de promover y acelerar la muerte de los fagocitos por medio de las citolisinas que forman poros en la membrana.

La proteína A presente en la superficie de *S. aureus* se une a la región Fcγ de la IgG e inhibe la opsonización y la fagocitosis. Un efecto similar es inducido por las proteínas M1 y H del estreptococo grupo A, pero con menor afinidad en comparación con los anticuerpos, por lo cual este mecanismo de evasión sólo es efectivo para la bacteria en condiciones en las que hay poca concentración de anticuerpos.

La enzima EndoS, expresada por estreptococos del grupo A, hidroliza glicanos de la región constante de las cadenas pesadas de la IgG y bloquea la capacidad de los anticuerpos para interactuar con receptores para Fc expresados en las células fagocíticas. Un evento comparable se presenta con una proteína similar a la inhibidora del receptor de péptido formilado secretado por *S. aureus*, la cual se une a receptores Fc de los fagocitos y previene el reconocimiento de complejos inmunes.

Los microorganismos grampositivos con capacidad invasiva tienen la aptitud de secretar la enzima superóxido dismutasa, la cual acelera la conversión de O_2 a H_2O_2, para generar una molécula menos reactiva. La catalasa es otro mecanismo habitual utilizado por las bacterias gramnegativas y por *S. aureus* para oxidar H_2O_2 y producir oxígeno molecular y agua. Sin embargo, es posible que existan otras vías catalíticas, pues los estreptococos y algunas cepas de *S. aureus* catalasa negativos también tienen esta capacidad, quizá mediada por sistemas como los de tioredoxina y glutatión, o bien por la participación de la enzima alquilhidroperoxidasa que convierte H_2O_2 en alcohol y agua.

Las bacterias aprovechan a su favor la constitución de su membrana; por ejemplo, las bacterias grampositivas poseen una capa muy compleja de proteínas y carbohidratos, como el ácido teicoico y peptidoglicanos, en tanto que otras bacterias poseen una cápsula; este hecho, en conjunto con la inhibición de la destrucción bacteriana, limita en forma significativa la liberación de peptidoglicanos y el reconocimiento por los PRR, lo mismo que el desarrollo de la respuesta inflamatoria.

Existen otros mecanismos en las bacterias grampositivas relacionados con el antagonismo de receptores de moléculas quimioatrayentes; un ejemplo de ello es el péptido formil-metionil-leucilfenilalanina (fMLP) secretado por *S. aureus* y que atrae PMN. Cuando éstos llegan a la zona de inflamación quedan expuestos a una proteína denominada CHIPS (por sus siglas en inglés *Chemotaxis Inhibitory Protein of Staphylococci*), capaz de ligarse específicamente al receptor de C5a de neutrófilos, lo que limita su capacidad de migración.

La formación de trampas extracelulares de neutrófilos o NET por los PMN es un proceso de muerte celular en el que las células liberan una estructura de cromatina decondensada rica en histonas, proteasas y AMP en los sitios de la infección. Lo hacen en respuesta a patógenos como estreptococo del grupo A y *S. aureus*, y se cree que promueven la muerte de los microorganismos al exponerlos a altas concentraciones de moléculas antimicrobianas en el sitio. La estructura de estas trampas, sostenida a la vez por el DNA celular, es crucial en este aspecto; tanto los estreptococos como *S. aureus* producen una DNAsa que interfiere con dicho proceso defensivo. De manera simultánea, *S. aureus* puede inducir la necrosis de los PMN tras su fagocitosis, debido a que produce una familia de toxinas heteroheptaméricas que se oligomerizan en la membrana leucocitaria, lo que genera poros y lisis osmótica. Entre éstas se incluyen hemolisina γ, leucotoxina ED y leucotoxina GH. Además, la estreptolisina del estreptococo del grupo A también es citolítica para los PMN.

Otros patógenos, por ejemplo *L. monocytogenes* y *Shigella flexneri*, son capaces de migrar de una célula hacia otra sin que medie espacio extracelular, con lo cual evitan los mecanismos defensivos presentes en ese ambiente. Los procesos por los cuales se da este fenómeno no se conocen del todo; sin embargo, los estudios sugieren que existe una participación activa de la célula aceptora, que de algún modo debe censar la presencia de *extensiones* originadas en la célula donante.

Características inmunológicas de las infecciones bacterianas más frecuentes en Latinoamérica

En América Latina las enfermedades infecciosas ocupan un lugar relevante respecto a las entidades nosológicas que afectan a la población. Así, todavía se observa una prevalencia significativa de sífilis en los hombres que mantienen sexo con los hombres, en la población transexual y en los trabajadores sexuales; esto muestra la necesidad de mejorar el monitoreo en estos grupos de riesgo. En la región también continúan siendo prevalentes la lepra, el tracoma y la leptospirosis.

En cuanto a la enfermedad por meningococo, los datos indican que los casos ocasionados por el serogrupo A prácticamente han desaparecido en América Latina, mientras que los serogrupos B y C son

los responsables de la mayor parte de los episodios comunicados en la región. El serogrupo Y se le ha observado con frecuencia en Colombia y Venezuela.

En un estudio reciente, basado en 23 854 registros de neumonía adquirida en la comunidad en niños menores de 5 años, se observó que *S. pneumoniae* fue el agente aislado con mayor frecuencia (11.08%, y el serotipo fue 14 el de mayor prevalencia); también vale la pena mencionar *H. influenzae* y *Mycoplasma pneumoniae*. En la Tabla 23-2 se detallan los aspectos más sobresalientes de la neumonía neumocócica.

Tras una década de la implementación de la terapia directa supervisada para la tuberculosis en Latinoamérica y el Caribe se detectó una tendencia a la baja en la incidencia de la enfermedad en relación con la intensidad del control de la enfermedad; esto es detección de extendidos positivos. No obstante, la patología continúa siendo un tema de primordial relevancia en el campo de la salud pública en términos de morbimortalidad y por las complejas interacciones de los mecanismos fisiopatogénicos de la interacción patógeno-hospedero.

La tuberculosis es una enfermedad particular, ya que la respuesta inmunológica es responsable tanto del control de la infección como del daño tisular; lo anterior amerita una descripción de los rasgos más sobresalientes de su fisiopatogénesis. Este padecimiento presenta una alta mortalidad entre las enfermedades infecciosas y tiene alta prevalencia en forma primordial en países subdesarrollados, donde la pobreza y las dificultades para acceder a los servicios de salud son obstáculos para el control eficiente de la enfermedad. Cada año se reportan cerca de 8.8 millones de nuevos casos y 1.6 millones de muertes.

Esta enfermedad se adquiere a través de la inhalación de partículas en suspensión que contienen el bacilo *M. tuberculosis*. Dentro de los pulmones, el *M. tuberculosis* infecta sobre todo a los macrófagos alveolares en los que reside y, en segundo lugar, a las células dendríticas, así como a los monocitos reclutados de sangre periférica. La participación de TLR-2, TLR-4, TLR-6 y TLR-9 es importante en el reconocimiento de la micobacteria y la respuesta mediada por las células dendríticas y los macrófagos. La activación por medio de TLR-9 puede incluso favorecer el desarrollo de la respuesta granulomatosa. A pesar de la participación de TLR-2, TLR-4 y TLR-9 en el reconocimiento de *M. tuberculosis*, las investigaciones con base en mutaciones en los TLR no indican que ejerzan un

Tabla 23-2. Rasgos sobresalientes de la neumonía por *S. pneumoniae* implicados en su fisiopatogénesis

- Proceso inflamatorio que afecta conductos y sacos alveolares, en los que el exudado ocupa, rellena y distiende las luces de los alvéolos con un grado variable de afectación parenquimatosa que, con frecuencia, toma parte de un lóbulo o la totalidad del mismo.
- *S. pneumoniae* posee una serie de factores que le permiten sortear en buena medida la fagocitosis (polisacáridos capsulares), la opsonización y el estrés oxidativo.
- La neumolisina se halla presente en casi todas las formas invasivas del patógeno y lesiona la membrana de las células del hospedero (células T, PMN o macrófagos), a la vez que inhibe la acción ciliar y afecta el estallido respiratorio de los fagocitos.
- Entre los principales componentes del sensado innato del neumococo están los TLR, receptores NOD, PCR, receptores *scavenger* y la proteína surfactante D.
- Los macrófagos alveolares constituyen la primera línea de defensa a nivel pulmonar. Cuando la carga bacteriana no logra controlarse, aparecen los PMN, que también intervienen en la fase resolutiva, vía la eliminación de PMN apoptóticos por los macrófagos (eferocitosis).
- En algunos casos, los PMN pueden tener efectos deletéreos en función de la virulencia del patógeno.
- A medio camino entre la inmunidad innata y la adaptativa se sitúan los linfocitos T no convencionales. Estos linfocitos incluyen tres tipos: las células T invariantes asociadas a la mucosa, los linfocitos γδ y las células NKT.
- Con respecto a la respuesta inmunológica adaptativa, no existe una clara definición del papel de los linfocitos T $CD4^+$. Los estudios en modelos experimentales indican que las células Th17 facilitan la eliminación bacteriana en ratones inmunizados vía la acción de células fagocíticas (macrófagos y PMN).
- Los linfocitos B son esenciales fundamentalmente por la producción de anticuerpos específicos, ya sea por la infección natural o por las inmunizaciones.
- La eliminación de los neumococos en circulación depende en su mayoría de la opsonización por el complemento y la posterior fagocitosis. De las tres vías (clásica, alterna y de la lectina), la primera parece ser la más significativa.

efecto significativo en cuanto al curso de la enfermedad observada en los modelos experimentales. En los mecanismos de reconocimiento innato también intervienen los receptores de lectina tipo C y los receptores tipo NOD (NLR). Se ha observado que los ratones deficientes en NOD2 presentan deficiencias en la respuesta inmunológica durante la infección con micobacterias. En el caso de los humanos, el NOD2 también puede modular la respuesta inmunológica innata y la función de los macrófagos alveolares, lo cual evidencia su importancia en las fases iniciales del proceso infeccioso. Los estudios realizados en modelos experimentales muestran que tanto la MyD88 como otras moléculas adaptadoras de los TLR y las reclutadoras de caspasas son relevantes en la respuesta inmunológica contra la infección con *M. tuberculosis*. También se ha observado que la molécula adaptadora del inflamasoma CARD9 tiene una función importante en la protección, quizá porque a través de ella convergen señales provenientes de varios PRR.

En cuanto a la respuesta inmunológica mediada por células, los macrófagos constituyen la primera línea de defensa contra las micobacterias, aunque *M. tuberculosis* puede adaptarse para sobrevivir y permanecer en dichas células por años. Los individuos que son capaces de montar una respuesta inmunológica adecuada para contener el crecimiento bacilar llegan a controlar de manera eficiente la infección primaria. En la mayoría de los casos esta infección es subclínica y radiológicamente inaparente, y la indicación de que se produjo se evidencia por una prueba cutánea de tuberculina positiva. Estos individuos persisten con la infección y son portadores no contagiosos de los bacilos tuberculosos.

Por otra parte, si la fase inicial de la infección es superada y/o el balance entre el patógeno y el hospedero se modifica, de 5 a 10% de las personas con infección latente desarrollan la enfermedad posprimaria, también conocida como TB secundaria. Esto significa que la infección ha podido avanzar a pesar del establecimiento de una respuesta inmunológica aceptable; esta progresión puede ser el resultado de la inhalación de nuevos bacilos infectantes o de la reactivación del foco primario.

La tuberculosis pulmonar es la forma más típica de enfermedad posprimaria. El mecanismo fundamental para la contención del crecimiento y la diseminación de *M. tuberculosis* es el granuloma, una estructura constituida histológicamente como un agregado organizado de células de la respuesta inmunológica que rodea los focos de las células infectadas (véase Recuadro 23-3).

De manera inicial los granulomas se componen de fagocitos mononucleares inmaduros rodeados de linfocitos efectores que incluyen tanto Th como Tc. También se genera una cápsula fibrosa que constituye una barrera de contención.

Los bacilos de la tuberculosis tienden a localizarse en el centro del granuloma, donde puede hallarse material necrótico que contiene abundantes lípidos de origen micobacteriano. Este material recibe el nombre de necrosis caseosa, aunque también se ubican macrófagos destruidos por los efectos líticos de los linfocitos Tc. La necrosis caseosa puede progresar a la licuefacción con la consecuente formación de cavernas. Una vez disgregado el granuloma, los bacilos de la tuberculosis hallan condiciones favorables para su crecimiento. El desarrollo de la caverna tuberculosa en el pulmón es un signo típico de la enfermedad posprimaria y permite la diseminación del material infeccioso por vía bronquial, lo mismo que su continua eliminación a través del esputo. Es por ello que el espectro clínico de la tuberculosis puede oscilar desde unos pocos focos ubicados en las partes superiores de los campos pulmonares a una intensa destrucción tisular y la afectación de varios lóbulos. Estas diferencias significativas en la evolución del cuadro clínico de la enfermedad son resultado de una compleja serie de interacciones entre *M. tuberculosis* y la respuesta inmunológica establecida.

Más allá de la participación de linfocitos T no convencionales, la resistencia a *M. tuberculosis* es conferida por los mecanismos inmunológicos dependientes de los linfocitos T. Sin embargo, los estudios realizados en pacientes no han permitido determinar que exista una diferencia clara respecto al patrón de citocinas producidas, dado que existe un amplio espectro en cuanto a la síntesis de estos mediadores. Las citocinas como IFN-γ son esenciales para el control de la carga bacilar, dada su capacidad para reclutar y activar monocitos/macrófagos con actividad microbicida, a pesar de que existen otros mecanismos no estrictamente ligados a esta citocina. Por su parte, el análisis de las citocinas tipo Th2 no ha arrojado resultados concluyentes acerca de la participación de dichas moléculas en la inmunopatología de la enfermedad. Se ha reportado un aumento en la producción de IL-4 en los pacientes tuberculosos, aunque no resulta claro si la IL-4 ejerce un papel central en la susceptibilidad a la enfermedad o sólo tiene que ver con la actividad de la misma. En pacientes con diferente grado de afectación pulmonar se detectó un aumento en la producción de IL-4 en las formas avanzadas, en tanto que en los pacientes con enfermedad leve se detecta una producción importante de IFN-γ, la cual va declinando de modo gradual con la progresión de la enfermedad.

A pesar de que el establecimiento de una respuesta inmunológica eficiente es crucial para contener la

infección por tuberculosis, resulta claro que una actividad enérgica de esta respuesta puede ser perjudicial; por ello se requiere de mecanismos de control intrínsecos al sistema inmunológico, como los linfocitos Treg. Estos linfocitos están encargados de prevenir el daño inmunopatológico, aunque al mismo tiempo pueden interferir con los procesos encargados de erradicar el patógeno. En la infección activa de tuberculosis se han observado niveles elevados de linfocitos $CD4^+CD25^+$ y $CD4^+$ $CD25^{high}$, en particular en el pulmón afectado. En consonancia con estos hallazgos, también se ha detectado un porcentaje elevado de linfocitos T $CD4^+CD25^{high}$ circulantes, lo mismo que en los niveles de mRNA para FoxP3 en PBMC (por sus siglas en inglés *Peripheral Blood Mononuclear Cells*) en los pacientes tuberculosos, con una presencia aún mayor en los sitios de inflamación activa y daño tisular.

También existen demostraciones en las que la depleción de linfocitos Treg $CD25^{high}$ está relacionada con un aumento de los linfocitos T secretores de IFN-γ, lo cual deja en claro su función reguladora que interfiere con los mecanismos de control de la infección tuberculosa. Se ha observado que la IL-10 puede interferir con la diferenciación de los linfocitos Th *naïve* hacia Th1 productores de IFN-γ mediante un efecto sobre las células dendríticas; de igual forma, la IL-10 es capaz de inhibir la función de los macrófagos al impedir el procesamiento de las micobacterias.

La compleja trama de mecanismos inmunológicos que subyacen en la evolución de esta patología también implica la generación de un desbalance inmunoendocrino de los pacientes, que se caracteriza por elevados niveles en la circulación de IFN-γ, IL-6, prolactina, hormonas tiroideas y cortisol, así como por una disminución de los niveles de testosterona, dehidroepiandrosterona (DHEA) y leptina. Este diálogo entre el sistema inmunológico y el neuroendocrino impacta de modo desfavorable sobre los mecanismos defensivos de los pacientes y favorece la progresión de la enfermedad, en particular con el estado de consunción de los enfermos y el deterioro de su respuesta inmunológica. El análisis de los efectos *in vitro* de los esteroides adrenales sobre la respuesta inmunológica demuestra que los pacientes con tuberculosis presentan una inhibición del cortisol en la linfoproliferación y la producción de IFN-γ, en tanto que la DHEA es capaz de suprimir la síntesis de TGF-β. Por otra parte, se ha observado que los sobrenadantes de cultivos de los PBMC de los enfermos tuberculosos estimuladas con *M. tuberculosis* inhiben la secreción de DHEA por células adrenales humanas, efecto que se revierte en parte por la neutralización de TGF-β. Este trastorno en la producción de DHEA no deja de tener consecuencias adversas, ya que dicho esteroide favorece el establecimiento de una respuesta tipo Th1. Por otro lado, la presencia de niveles elevados de TGF-β es más preponderante en los pacientes con formas progresivas de la enfermedad, lo mismo en los niveles circulatorios que en la producción *in vitro* por PBMC.

Como patógeno altamente eficiente, *M. tuberculosis* ha desarrollado una serie de estrategias de evasión que involucran distintos pasos de la respuesta defensiva y que se resumen en seguida. Por un lado, la micobacteria produce glucolípidos y factores proteínicos que detienen la fusión del fagosoma con el lisosoma y su posterior maduración en los macrófagos, para así evitar el efecto deletéreo lisosomal. Los componentes de la pared micobacteriana parecen jugar un papel crucial en esta detención. El lipoarabinomanano y dimicolato de trehalosa estarían involucrados en este proceso que, en definitiva, les permite persistir dentro de los macrófagos.

También se ha comprobado que *M. tuberculosis* utiliza una subunidad de una alquil hidroperóxido reductasa, la cual le permite reducir peroxinitrito a nitrito y prevenir la oxidación de su DNA, así como de los lípidos y proteínas. El bacilo también sintetiza enzimas (p. ej., catalasa, el complejo peroxidasa reductasa y superóxido dismutasa) que neutralizan a los ROS, un hecho que es facilitado porque poseen una gruesa pared celular rica en ácidos micólicos, lipoarabinomanano y glicolípido fenólico-1. Asimismo, estas bacterias pueden elaborar compuestos antioxidantes que preservan un ambiente reductor en el citoplasma.

M. tuberculosis puede unirse a moléculas de adhesión intercelular de las células dendríticas y el receptor de manosa, lo cual induce la expresión de IL-10 y de otras citocinas antiinflamatorias, por ejemplo IL-4 e IL-13, a la vez que previene la expresión de IL-12 y las respuestas Th1.

Otras estrategias de evasión apuntan a una interferencia con el procesamiento y la presentación de los antígenos. En este sentido, el bacilo induce una menor expresión o bien un secuestro intracelular de moléculas MHC II sobre las APC, al mismo tiempo que ocasiona un defecto en la unión de los péptidos e impide la señalización por parte del IFN-γ. Al respecto se sabe que el lipoarabinomanano, dimicolato de trehalosa y una lipoproteína de 19 kDa inhiben la expresión de genes inducibles por IFN-γ, incluidos aquellos involucrados en el procesamiento y presentación antigénica.

Asimismo, se ha observado que la infección de las células dendríticas con *M. tuberculosis* altera su proceso de maduración, con lo que se ralentiza el desarrollo de la respuesta adaptativa específica en el pulmón. La apoptosis, que representa una buena estrategia para erradicar las células infectadas, puede

ser inhibida por el bacilo, que a la vez promueve la necrosis, y, de ese modo, preserva un ambiente ventajoso para su crecimiento, puesto que logra seguir infectando otras poblaciones celulares.

En definitiva, resulta claro que la TB constituye un modelo natural en el cual los procesos esenciales empleados para mantener la homeostasis y las estrategias defensivas exitosas terminan siendo perjudiciales cuando la infección no se resuelve y se torna crónica. Tales trastornos no sólo afectan los mecanismos de contención, sino también la comunicación neuroinmunoendocrina para ensombrecer aún más el curso mórbido de la enfermedad. En la Figura 23-2 se muestra una síntesis de estos aspectos.

Aplicaciones clínicas de nuevos tratamientos

Se han desarrollado estrategias de inmunomodulación para el tratamiento de las patologías infecciosas, las cuales abarcan un amplio espectro, ya que en algunos casos es necesario potenciar los mecanismos defensivos hacia el patógeno, mientras que en otros la intervención debe dirigirse a limitar la respuesta inmunológica cuya exacerbación puede ocasionar daño a los tejidos del hospedero (véase Figura 23-3).

Entre las estrategias más significativas destacan las que se relacionan con el reconocimiento de los componentes microbianos por los TLR, que inician la activación de la respuesta innata e inflamatoria, al tiempo que inducen la maduración de las células dendríticas y la respuesta de los linfocitos Th. Al respecto, el estudio de los agonistas y antagonistas de los TLR, así como de los inhibidores de las vías de señalización por TLR, en la actualidad son ensayados para su potencial aplicación terapéutica. Se ha descrito que un agonista de TLR, el monofosforil lípido A, desempeña una importante acción como adyuvante en las vacunas.

El factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF) es utilizado desde hace tiempo como una herramienta efectiva para estimular la producción de PMN en los pacientes con neoplasias sometidos a quimioterapia. Asimismo, esta citocina también posibilita que las células madre hematopoyéticas se movilicen desde la médula ósea hacia la sangre. Dicha propiedad amplía sustancialmente su rango de aplicación clínica, ya que la administración de G-CSF al momento de efectuar un trasplante de médula permite obtener un número adecuado de células hematopoyéticas, lo cual reduce el tiempo requerido para restaurar el número de PMN y plaquetas. Esto hace evidente el inconveniente de los grandes volúmenes de células hematopoyéticas autólogas y alogénicas de médula ósea que debían recolectarse bajo anestesia general.

En este mismo sentido, estudios experimentales sugieren que las citocinas IL-4/IL-13 pueden modular la calidad y el funcionamiento de los linfocitos Tc antígeno específicos en procedimientos de inmunización. Al parecer, una inhibición transitoria de IL-4 y/o IL-13 al momento de la vacunación da lugar a una inmunidad sostenida y de alta calidad por los linfocitos Tc, con lo cual se podría conseguir una mejor protección hacia los patógenos que ingresan a través de las mucosas.

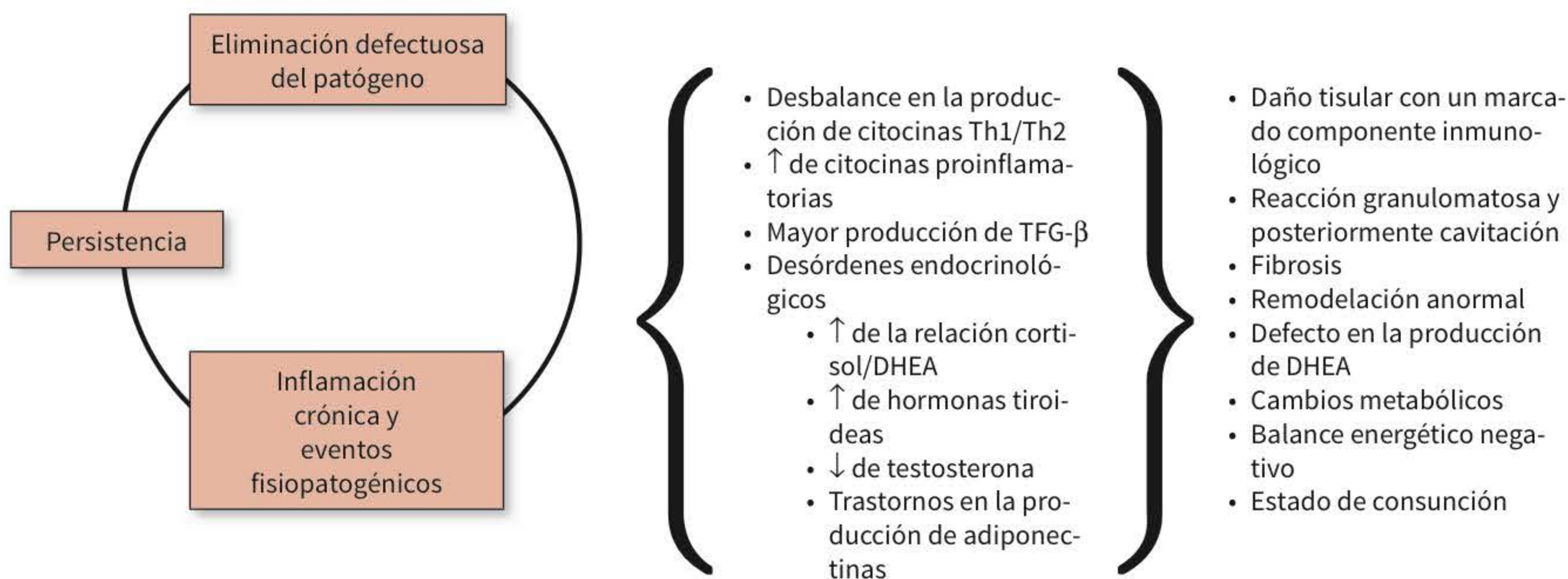


Figura 23-2. Procesos fisiopatológicos subyacentes en la tuberculosis pulmonar
La incapacidad del hospedero para eliminar la micobacteria da lugar a un proceso crónico con un importante grado de inflamación, donde los mismos procesos defensivos terminan generando fenómenos fisiopatológicos, que dificultan aún más el montaje de una respuesta adecuada hacia la micobacteria como así también el control de la flogosis.

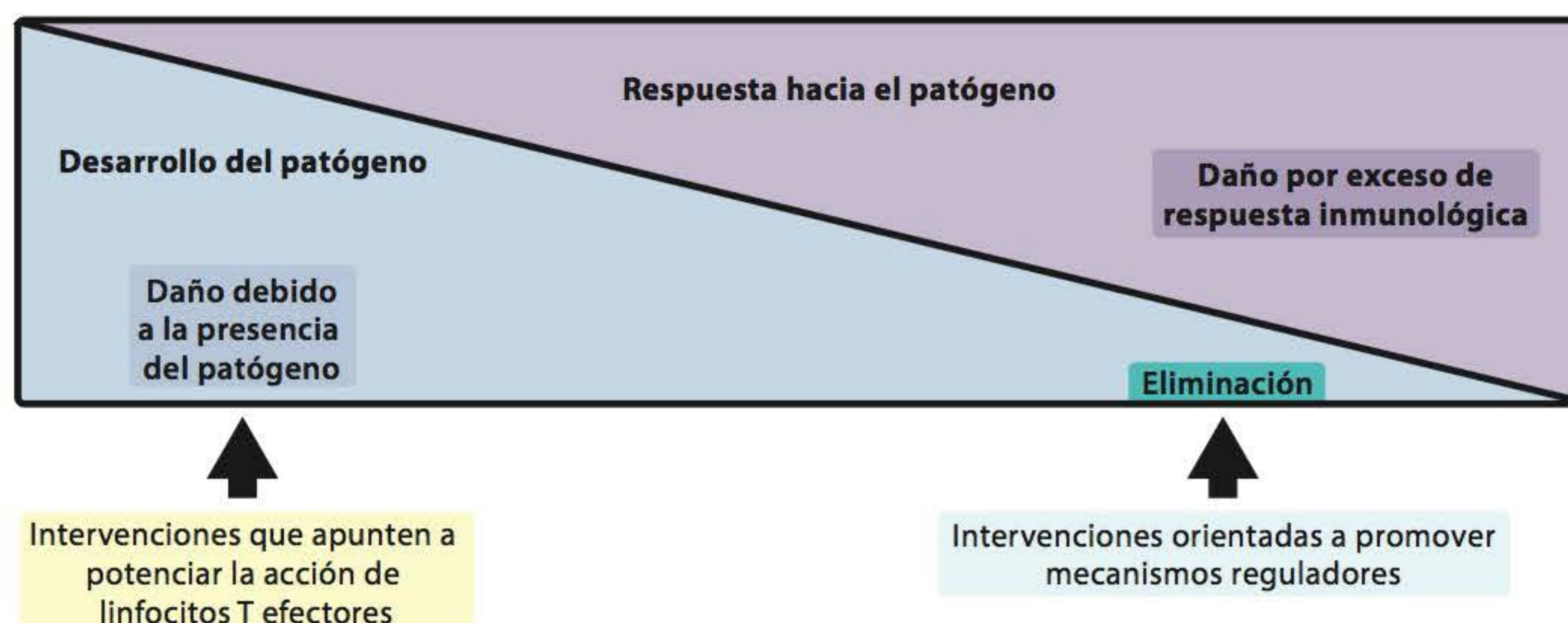


Figura 23-3. Potenciales estrategias de terapias inmunológicas adyuvantes en enfermedades infecciosas
En términos generales, el desarrollo de estrategias de inmunomodulación para el tratamiento de las patologías infecciosas, se mueve en un espectro donde en un extremo se ubica la necesidad de potenciar la resistencia al patógeno, mientras que en el otro polo las pautas de intervención deberían estar orientadas a delimitar una respuesta inmunológica que finalmente es nociva para los tejidos del hospedero.

Resumen

El sistema inmunológico adaptativo pone en juego distintos mecanismos para la resistencia ante las infecciones bacterianas, entre éstos la respuesta a las bacterias extracelulares. En tal caso, las acciones tenderán a eliminar los microbios y neutralizar las sustancias tóxicas que éstos producen. Dado que estas bacterias no residen dentro de las células y las toxinas, ejercen su acción ya sea en el mismo sitio o viajando a través de la sangre, la inmunidad humoral es un elemento primordial de la respuesta protectora. Así, las células $CD4^+$ específicas para el antígeno dirigen, a su vez, la expansión y diferenciación de linfocitos B, con la consecuente producción de anticuerpos y sus distintos isotipos. Las inmunoglobulinas específicas confieren protección hacia este tipo de infecciones mediante cuatro tipos de acciones: la producción de anticuerpos IgG opsonizantes que favorecen la fagocitosis del patógeno por parte de los monocitos, macrófagos y PMN; la neutralización de exotoxinas, lo que impide que éstas interactúen con las células blanco; la inhibición de la adherencia a las células epiteliales, y la activación de la vía clásica del complemento por IgG e IgM.

Las bacterias de vida intracelular pueden infectar las células fagocíticas, pero también otros tipos de células. Las células fagocíticas profesionales (monocitos/macrófagos) proceden a la destrucción bacteriana por medio de la producción de sustancias tóxicas (metabolitos intermedios del oxígeno y el nitrógeno). La activación de los macrófagos se logra a través de citocinas producidas por diferentes tipos celulares, como las células NK y los linfocitos $CD4^+$ y $CD8^+$, que sintetizan IFN-γ, y los mismos macrófagos productores de TNF-α. Muchas células infectadas pueden activar el programa de muerte celular y los restos apoptóticos serán después fagocitados por macrófagos y DC (eferocitosis), lo cual permite presentar antígenos bacterianos a los linfocitos Tc específicos en el contexto molecular del MHC I. Estos linfocitos Tc son efectivos para eliminar macrófagos u otras células infectadas, ya sea por la vía de la secreción de perforinas y granzimas, o por la inducción de apoptosis mediante la interacción Fas-FasL. Tras una nueva ronda de eferocitosis a cargo de las células no infectadas (macrófagos y DC), dicho material será degradado. En definitiva, la contención de patógenos intracelulares se sustenta en la acción mancomunada de células fagocíticas/presentadoras de antígenos, linfocitos CD4 y CD8 positivos.

Lecturas sugeridas

Barth K, Remick DG, Genco CA. Disruption of immune regulation by microbial pathogens and resulting chronic inflammation. *Journal of Cellular Physiology*. 2013;228(7):1413-22.

Castañeda E, Agudelo Cl, De Antonio R, Rosselli D, Calderón C, Ortega-Barria E, *et al*. *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis, 1990-2010. *BMC Infectious Diseases*. 2012;12:124.

Dockrell DH, Whyte MKB, Mitchell TJ. Pneumococcal pneumonia. Mechanisms of infection and resolution. *Chest*. 2012;142(2):482-91.

Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Periago MR. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(9):e300.

Kara EE, Comerford I, Fenix KA, Bastow CR, Gregor CE, McKenzie DR, *et al*. Tailored immune responses: novel effector helper T cell subsets in protective immunity. *PLoS Pathogens*. 2014;10(2): e1003905.

Okumura CYM, Nizet V. Subterfuge and sabotage: evasion of host innate defenses by invasive Gram-positive bacterial pathogens. *Annual Review of Microbiology*. 2014;68:439-58.

Capítulo 24

Respuesta inmunológica a virus

ALEJANDRO SÁNCHEZ GONZÁLEZ • MIGUEL ÁNGEL BECERRIL GARCÍA

INTRODUCCIÓN

Contenido del capítulo

Las infecciones virales constituyen una de las principales preocupaciones de salud en el mundo, ya sea por la aparición recurrente de brotes infectivos estacionales o debido a los brotes epidémicos causados por nuevas cepas virales. Con el propósito de tratar de disminuir el impacto de las enfermedades virales y generar estrategias efectivas de control, se han conformado grupos multidisciplinarios integrados por investigadores, médicos, sociólogos, epidemiólogos y empresas farmacéuticas, entre otros. El conocimiento obtenido de esa forma ha hecho posible el avance de medidas efectivas para la prevención y el tratamiento de las enfermedades virales; por ejemplo, el desarrollo de vacunas, que en algunos casos han resultado muy efectivas. Sin embargo, el surgimiento constante de nuevas cepas (ante las que las vacunas existentes resultan inefectivas) conlleva la necesidad de continuar el estudio de la biología de los grupos virales y del papel del hospedero en la infección.

Desde el punto de vista evolutivo, existe un equilibrio en la naturaleza entre los virus y las respuestas protectoras que son capaces de inducir en su hospedero. Un virus que es fuerte inductor de moléculas protectoras, como el interferón, se propagará mal y será muy susceptible a las acciones antivirales del hospedero; en contraparte, si la replicación del virus es muy eficiente y el hospedero es incapaz de controlar la infección, el virus eliminará a su huésped. Por ello, los virus más exitosos son aquellos que inducen una respuesta moderada o baja en el hospedero y, de esta forma, perpetúan su presencia a lo largo del tiempo.

EL PAPEL DEL INTERFERÓN DURANTE LAS INFECCIONES VIRALES

Los interferones son citocinas cuyo nombre fue atribuido originalmente por su capacidad para inhibir la replicación de diversos tipos de virus tanto *in vitro* como *in vivo*; luego se demostró que también tienen efectos pleiotrópicos en muchos aspectos de la fisiología celular. Los interferones se clasifican en dos grandes superfamilias: interferones tipo I e interferones tipo II; ambas superfamilias actúan por medio de receptores de membrana, aunque no guardan relación estructural entre ellas. La superfamilia de los interferones tipo I se encuentra conformada por el IFN-α, IFN-β, IFN-ω, IFN-λ y

IFN-τ; mientras que la superfamilia de los interferones tipo II sólo está conformada por el IFN-γ.

Los interferones tipo I son polipéptidos secretados por células infectadas y pueden desempeñar diversas funciones: a) inducen, en las células adyacentes a la infección, un estado intrínseco antiviral que limita la diseminación de los patógenos virales; b) participan en la maduración de las APC (del inglés *Antigen Presenting cell* o células presentadoras de antígenos) y en la producción de citocinas y quimiocinas por parte de las células de la respuesta inmunológica innata y c) favorecen la producción de anticuerpos y amplifican la función de los linfocitos T efectores en la respuesta inmunológica adaptativa.

Diversos componentes virales pueden inducir (lo mismo a nivel de receptores celulares que a nivel genético) que se active la producción de interferones. En particular, se sabe que el RNA viral de doble cadena es capaz de inducir la producción de IFN-β al activar factores de transcripción. Las vías de inducción de interferones tipo I pueden diferir durante las fases iniciales de la activación celular, pero, por último, convergen en las mismas regiones reguladoras de los genes que promueven su transcripción. Por ejemplo, el promotor de IFN-β está constituido por varios elementos y proteínas que regulan positiva o negativamente la transcripción.

Cuando las células se encuentran en reposo, los genes encargados de la transcripción de IFN-β están apagados y ocupados por proteínas que regulan de modo negativo su transcripción; una vez que las células están infectadas por virus, estos elementos son reemplazados por proteínas de regulación positiva que favorecen la transcripción del gen de IFN-β. En respuesta a la presencia de genoma viral, las células producen y secretan interferones tipo I luego de la activación de factores de transcripción, como NF-κB, mediante la vía de señalización de la proteína cinasa R (PKR), o tras la activación de IRF3 (del inglés *Interferon Regulatory Factor 3*, o factor regulador del interferón 3) o por medio de la vía de señalización de RIG-1 (del inglés *Retinoic-Acid Inducible Protein 1*, o proteína 1 inducible por ácido retinoico).

Los interferones tipo I se unen a receptores específicos de la membrana y, a través de la vía JAK-1/STAT1/2, se activan factores de transcripción que favorecen que se transcriban los ISRE (del inglés *Interferon Stimulated Response Element*, o elementos de respuesta estimulados por interferón). La consecuencia es la síntesis de moléculas con actividad antiviral; por ejemplo, IRF3/7, Mx, p56, PKR y RIG-1.

Una vez secretados, los interferones pueden inducir la síntesis de gran variedad de moléculas de naturaleza proteínica, como enzimas, proteínas de señalización, quimiocinas, proteínas involucradas en la presentación de antígenos, factores de transcripción, proteínas de choque térmico y proteínas apoptóticas. Varias de estas proteínas cuentan con actividad antiviral; es el caso de las 2'-5' oligoadenilato [2-5 (A)] sintetasas, que son inducidas por la presencia de RNA viral de doble cadena y favorecen la activación de la RNasa L. Ésta se dimeriza y adquiere la capacidad de degradar al RNA (tanto viral como celular), lo que conlleva a la apoptosis de las células infectadas.

La PKR se activa por la presencia de interferón y RNA de doble cadena, que inducen su dimerización y posterior autofosforilación. Cuando se activa, la PKR fosforila el factor de iniciación eIF-2. Así, inhibe la síntesis de proteínas, lo mismo celulares que virales, por lo que la célula entra en apoptosis. La p56 es una proteína que se produce en respuesta a la presencia de interferón y RNA viral de doble cadena, e inhibe la síntesis de proteínas al unirse al factor eIF-3. La proteína Mx es miembro de las familias de la dinaminas y GTPasas grandes; su producción es inducida por interferón y cuenta con actividad antiviral contra el virus de la influenza. Los IRF 3 y 7 son miembros de la familia de los IRF; se activan por infecciones virales que producen su fosforilación y translocación hacia el núcleo.

Los efectos antivirales de los interferones son mediados ya sea por los componentes del sistema inmunológico o por las vías intracelulares antivirales. Estos efectos favorecen la producción de moléculas que pueden inhibir uno o varios puntos del ciclo de replicación de los virus (efecto acumulativo), como la penetración de los virus a la célula del hospedero, la transcripción del mRNA, la síntesis de proteínas, la replicación del genoma, el ensamble y la liberación de los viriones.

Mecanismos de reconocimiento viral

Uno de los primeros aspectos que determina el desenlace de la interacción del virus con el hospedero es el contacto entre las células del sistema inmunológico y la partícula viral, ya que, de acuerdo con el resultado de éste, se llegará al establecimiento o la resolución de la infección. La complejidad de dicha interacción es provocada por diversos factores del virus y del hospedero. Las células del sistema inmunológico han adquirido mecanismos complejos, con los cuales son capaces de reconocer las partículas virales y establecer una respuesta antiviral que permite la resolución de la infección. Sin embargo, muchos grupos de virus han desarrollado mecanismos que les permiten evadir tal reconocimiento y, así, replicarse y continuar la infección.

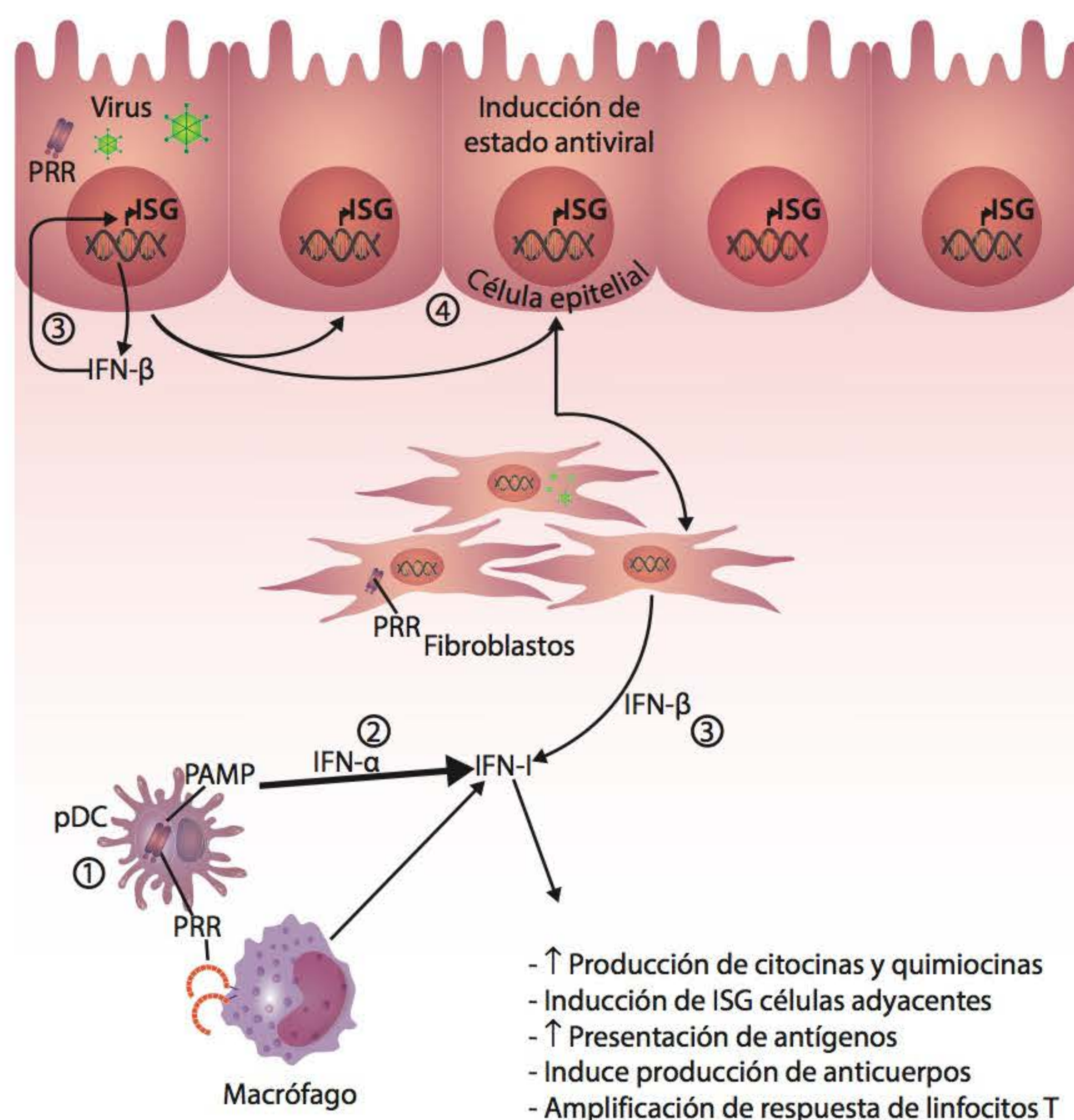


Figura 24-1. **Participación de los interferones tipo I en la respuesta inmunológica innata y la adaptativa** 1. Las células de la respuesta inmunológica innata, como macrófagos y células dendríticas, producen interferones tipo I (IFN I) luego de reconocer patógenos mediante los receptores de reconocimiento de patrones (PRR). 2. Las células dendríticas plasmacitoides (pDC) producen, en particular, grandes cantidades de IFN I. 3. Mientras que otras células (p. ej., los fibroblastos y las células epiteliales) producen predominantemente IFN-β. 4. Tanto en las células infectadas como en las células vecinas, los IFN I inducen la expresión de proteínas estimuladas por IFN (ISG) con actividad antiviral. Las células de respuesta inmunológica innata responden incrementando la presentación antigénica y la producción de citocinas y quimiocinas. Los IFN I también influyen en la respuesta inmune adaptativa, ya que pueden favorecer el aumento de producción de anticuerpos por las células plasmáticas, además de que amplifican la respuesta efectora de los linfocitos T.

Cabe mencionar que algunos virus incluso son capaces de utilizar las moléculas del sistema inmunológico a su favor, lo que suele ocasionar el agravamiento del cuadro clínico presentado por el paciente.

Hasta el momento se identifican tres fases en las que el sistema inmunológico reconoce moléculas de origen viral: a) contacto y entrada de los virus a su célula blanco; b) liberación del genoma viral e inicio de la replicación para generar nuevos genomas virales en el citoplasma o el núcleo de la célula infectada y c) ensamblaje y liberación de nuevos viriones. Es importante mencionar que las fases anteriores son miras a seguir para el desarrollo de nuevos fármacos antivirales y vacunas.

El establecimiento de una respuesta inmunológica protectora contra virus es un proceso complejo, ya que (al ser patógenos intracelulares) los virus pueden evadir la respuesta inmunológica celular y humoral una vez que penetran en su célula blanco. Sin embargo, la célula posee mecanismos que incrementan su capacidad de reconocer patógenos, lo que permite que los identifique en diferentes localizaciones celulares. El reconocimiento de los PAMP (del inglés *Pathogen Associated Molecular Patterns*, o patrones moleculares asociados a patógenos), por medio de los PRR (del inglés *Pattern Recognition Receptors*, o receptores de reconocimiento de patrones) ha sido un campo muy estudiado. En particular, se ha encontrado que el TLR-3 es capaz de reconocer al RNA de doble cadena que se encuentra en los reovirus, mientras que el heterodímero conformado por el TLR-7 y el TLR-8 reconoce al RNA de cadena sencilla presente en los coronavirus, togavirus, arenavirus y el retrovirusal interior de los endosomas. Además, se sabe que el TLR-9 es capaz de reconocer genomas de DNA de herpesvirus, adenovirus y hepadnavirus en el citoplasma celular para establecer una respuesta antiviral.

Reconocimiento de RNA viral por receptores intracelulares

Cuando se libera el genoma viral en el citoplasma para ser transportado hacia el núcleo (o bien si el propósito es comenzar ahí mismo su replicación), este genoma puede ser reconocido por PRR intracelulares que eliminan o restringen la infección. Es importante mencionar que se han descrito moléculas específicas que permiten el reconocimiento diferencial de genomas de RNA o DNA. El reconocimiento de genomas de RNA se lleva a cabo por moléculas pertenecientes a los RLR (del inglés *RIG-1-Like Receptors*); estos RLR son capaces de iniciar una respuesta de interferones tipo I caracterizada por altas dosis de IFN-α e IFN-β, lo mismo que por altas cantidades de citocinas proinflamatorias en los pacientes infectados (Figura 24-1). Hoy en día se han descrito tres receptores pertenecientes a dicha familia:

a) RIG-1, que reconoce segmentos cortos de cadena sencilla o doble de RNA que son característicos de los virus de influenza A, virus Sendai, rotavirus y flavivirus.

b) MDA5 (por sus siglas en inglés *Melanome Differentiation-Associated Protein 5*), que reconoce segmentos largos de RNA de doble cadena, que se encuentran en arenavirus y cardiovirus.
c) Receptor LGBP2 (por sus siglas en inglés *Laboratory of Genetics and Physiology 2*, denominado así por el sitio donde fue caracterizado el receptor), que posee la función de potenciar la respuesta inmunológica de los otros dos receptores de la familia.

La vía general de activación que desencadenan el RIG-1 y la MDA5 para establecer un estado antiviral en la célula implica la interacción con la proteína MAVS (del inglés *Mitocondrial Antiviral-Signaling Protein*, o molécula adaptadora mitocondrial), también conocida como IPS-1, VISA o Cardiff. La MAVS activa las vías de fosforilación TBK1/IKK-ε e IKK-α/β/γ. La TBK-1 fosforila y activa al IRF3, lo que promueve la activación de los genes nucleares de IFN-α e IFN-β. La secreción de ambos tipos de interferones actúa de forma autocrina y paracrina para limitar la infección viral hacia las células vecinas, al promover la dimerización en la membrana celular de los receptores IFNAR 1 y 2. Por reacciones de fosforilación, éstos activan las vías JAK-STAT e IRF9, lo que promueve la activación de los ISG (del inglés *Interferon-Stimulated Genes*, o genes estimulados por interferón, [Figura 24-1]).

Los ISG son más de 100 con función antiviral cuyos productos aún no han sido caracterizados por completo, aunque se piensa que son proteínas capaces de inhibir la replicación viral en todas sus fases. Además, el complejo IKK-α/β/γ promueve la activación del NF-κB y, con ello, la transcripción de diversos genes proinflamatorios. Por otra parte, LGBP2 también interactúa con el RNA viral; sin embargo, es incapaz de comenzar cualquier tipo de señalización, pues carece de los dominios necesarios. Por ello, hasta el momento su función se asocia a la regulación de las vías mediadas por RIG-1 y MDA5.

El reconocimiento de RNA viral también se da al interior de los endosomas mediados por el TLR-3, que promueve el reclutamiento del TRIF (del inglés *TIR-domain-containing adapter-inducing IFN*-β, o proteína adaptadora que contiene un dominio TIR inductora de IFN-β); éste puede promover la activación de las vías TBK e IRF3 y 7.

Reconocimiento de DNA viral por receptores celulares

El reconocimiento de genomas de los DNA virus, que culmina en la expresión de interferones, sucede de forma similar al proceso anterior. Se describió que el genoma bicatenario de varias especies de herpesvirus, hepadnavirus y papilomavirus es reconocido por

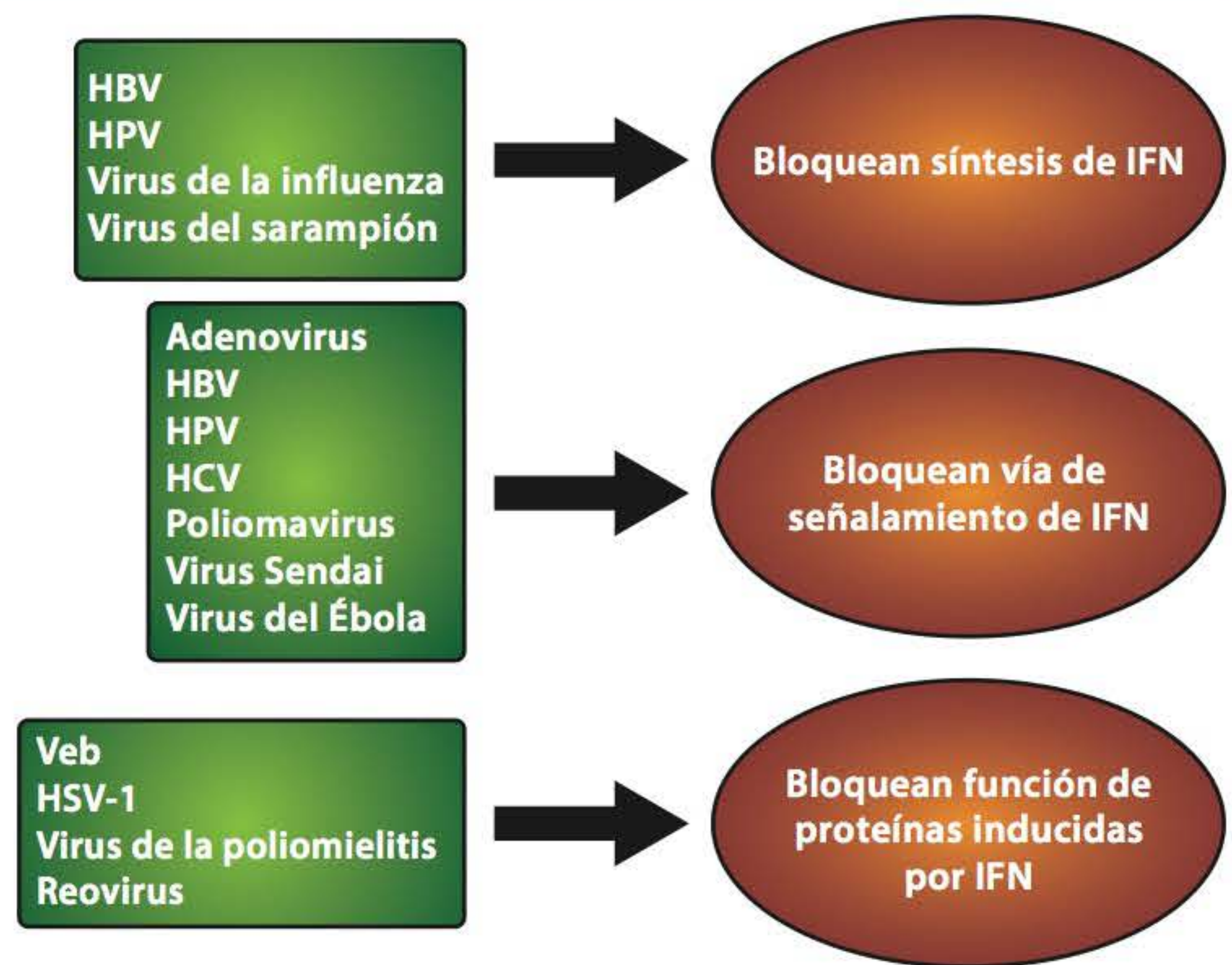


Figura 24-2. Interferencia viral con el sistema de interferón (IFN)
Se han descrito al menos 3 formas mediante las cuales los virus pueden inhibir las funciones del sistema de interferón: a) bloqueando la síntesis de interferón, b) bloqueando la vía de señalamiento de interferón y c) bloqueando la función de las proteínas inducidas por interferón.

medio de receptores de DNA presentes en el citoplasma, que tienen la capacidad de reconocer distintos tipos de DNA durante la replicación viral. El DNA no metilado presente en los virus de esta familia puede ser reconocido en el interior de endosomas por TLR-9 y produce el reclutamiento de la MyD88, la cual (mediante reacciones de fosforilación) activa el complejo IRAK-TRAF6 y luego el IRF3/IRF7, lo que favorece la transcripción de los genes de IFN-α e IFN-β. De forma simultánea, la activación del complejo IRAK-TRAF6 promueve la activación del NF-κB y la secreción de citosinas proinflamatorias.

En los DNA virus que no se internalizan por endocitosis hay varios receptores citoplasmáticos con capacidad para reconocer DNA; se describió que el DNA no metilado puede ser reconocido en el citoplasma por la familia de las helicasas de RNADExD/H-box, que incluye al DHX9, DHX36 y DDX41. Cuando son estimulados, el DHX9 y DHX36 interactúan con la MyD88, la cual activa al IRF7 y NF-κB. Éste induce la producción de IFN-α, IFN-β y citosinas proinflamatorias. Se observó que el DDX41 reconoce DNA bicatenario citoplasmático y su activación estimula al mediador de la activación del IRF3, activador clave para la expresión de interferones tipo I. Otras moléculas capaces de reconocer DNA bicatenario en el citoplasma, cuya señalización promueve la transcripción de genes de interferón tipo I, son el DLM-1 o DAI (del inglés *DNA-Dependent Activator of Interferon-Regulatory Factor*, o activador dependiente de DNA del factor regulador de interferón) y la cGAS (del inglés *Cyclic GMP-AMP Synthase*, o sintasa de GMP-AMP

cíclico). El DAI activa la vía TBK1-IRF3, en tanto que la vía de cGAS es activada por DNA bicatenario y promueve la transcripción de monofosfato de adenosina y guanosina cíclica (cGAMP), la cual se une y activa a STING e induce la transcripción de IFF-β.

Existen otros complejos proteínicos capaces de activar a STING o IRF3 al reconocer DNA bicatenario presente en las partículas virales. Entre éstos se encuentran los conformados por la proteína Ku70 y la proteína Ku80; otro ejemplo son los complejos conformados por la subunidad catalítica DNA-PKC y la DNA-PK. La observación de que la Ku70, por sí sola, es capaz de reconocer DNA al activar el complejo IRF7/IRF1 para producir IFNλ1 ha provocado particular interés. También se reportó que el sensor de daño al DNA conocido como MRE11 (del inglés *Meiotic Recombination 11 Homologue A*, u homólogo A de recombinación meiótica 11) puede reconocer DNA intracelular y activar la transcripción de interferones mediada por la vía STING/IRF3. El sensor denominado LRRFIP1 (del inglés *Leucine-Rich Repeat Flightless Interacting Protein 1*) media la inducción de interferones tipo 1, al reconocer DNA bicatenario y promover la fosforilación del factor de transcripción dependiente de β-catenina que interactúa con IRF3. Es sorprendente el descubrimiento de la función de sensor citoplasmático de DNA que se encontró en las moléculas de RNA polimerasa III, presentes en las células. Se observó que al interactuar con DNA bicatenario inicia la transcripción de zonas de DNA ricas en los nucleótidos adenina-timina (A-T) a RNA bicatenario, que es reconocido por los receptores citoplasmáticos para RNA RIG-1/MDA5, lo que promueve la transcripción de IFN-α y IFN-β (véase Figura 24-1).

Por último, otro mecanismo de la respuesta inmunológica contra virus implica la activación del inflamasoma en células infectadas con DNA viral. Los inflamasomas son complejos multiproteínicos que controlan el inicio de la inflamación mediada por la activación de caspasa-1 y la maduración de las IL-1β e IL-18 en respuesta a infecciones. La formación de dichos complejos proteínicos está mediada por diferentes intermediarios que permiten su clasificación; sin embargo, se describió que los inflamasomas pertenecientes a la familia de los NLR (del inglés *NOD-like Receptors*, o receptores con dominios similares a las moléculas de oligomerización de unión a nucleótidos) poseen un papel predominante en el reconocimiento viral. Entre éstos, se refirió que las proteínas con dominios de unión a pirinas en su estructura (como el NLRP3 y la proteína humana IFI16) poseen un papel predominante en la formación de inflamasomas en respuesta a infecciones contra el virus del herpes y de Epstein-Barr. Se encontró que el NLRP3 detecta DNA viral en el citoplasma para formar inflamasomas en este sitio, mientras que la detección de DNA viral en el núcleo por la IFI16 promueve la translocación de este complejo hacia el citoplasma, donde interactúa con la molécula adaptadora ASC para formar y activar el inflamasoma.

Mecanismos celulares para inhibir la liberación de viriones

La fase final de la infección viral implica el ensamblado y liberación de las nuevas partículas virales de la célula infectada. Este proceso, por lo regular, sucede en zonas muy próximas de la membrana externa y se reportan mecanismos celulares cuya función es limitarlo o inhibirlo. El antígeno BST-2 (del inglés *Bone Marrow Stromal Antigen 2*, o antígeno 2 de células estromales de médula ósea), también conocido como CD137 o teterina, es inducido por la respuesta a interferón que se une directamente a las partículas virales formadas por completo al interior de la membrana de las células que lo expresan, lo que impide su liberación. Hasta el momento, se encontró que esta proteína es expresada en forma activa en respuesta a la infección por virus envueltos de las familias de herpesvirus, retrovirus, filovirus y arenavirus. La teterina posee una topología particular que le permite interactuar de manera específica con las membranas, tanto de la célula como de los viriones, y simultáneamente con la maquinaria de endocitosis-degradación. El extremo amino de la proteína se ubica hacia el citoplasma, donde mediante su asociación con la ubiquitina ligasa BCA2 interactúa de modo directo con la maquinaria endocítica y dirige a los virus atrapados hacia los lisosomas, para que sean degradados. Por otro lado, su extremo carboxilo se encuentra modificado con un dominio de glucosil-fosfatidilinositol (GPI), que le permite integrarse en dominios membranales ricos en colesterol o *balsas lipídicas*. Las balsas lipídicas son el lugar primordial donde se ensamblan las nuevas partículas virales y se produce su gemación para infectar nuevas células. Aunque se desconoce la razón, se observó que, en algunos casos, las partículas virales no son degradadas, pero permanecen atrapadas al interior de la célula y restringen la infección.

La importancia de la teterina en la respuesta antiviral es sustentada por estudios que describen su presencia en membranas del trans-Golgi y en la membrana de vesículas endosomales tempranas y de reciclaje en células activadas con IFN-α y IFN-β, lo que indica que no se halla restringida en células infectadas.

Reconocimiento de virus por neutrófilos y células NK

Hasta el momento, no se ha comprendido con exactitud el papel de los polimorfonucleares (PMN), y en

particular de los neutrófilos, en las infecciones virales. Quizá, la causa es la dificultad que conlleva el estudio de esta estirpe leucocitaria en los laboratorios debido a su vida media corta *ex vivo*. Por su función protectora, se ha propuesto que los neutrófilos principalmente llevan a cabo una función inmunomoduladora; sin embargo, su activación exacerbada contribuye a la patogenia de la enfermedad. En este sentido, se cree que los neutrófilos pueden limitar la infección al ser capaces de reconocer genomas virales, tanto de DNA como de RNA, mediante los TLR, lo cual permite generar un estado antiviral caracterizado por la secreción de IFN-α e IFN-β por los propios neutrófilos y otras células de la respuesta inmunológica. Dichas observaciones fueron confirmadas en pacientes infectados con virus de la influenza A; en tales casos, los neutrófilos poseen una función protectora al promover la activación de células dendríticas y linfocitos Tc por medio de la degranulación de sus productos y su capacidad para presentar antígeno, lo mismo que de la secreción de quimiocinas y citocinas con capacidad para atraer otras células del sistema inmunológico hacia los sitios de infección. Hace poco, se propuso la formación de NET (del inglés *Neutrophil Extracelular Traps*, o trampas extracelulares de neutrófilos) como un mecanismo que limita la dispersión viral. Estas estructuras, formadas a partir de la expulsión del material genético del neutrófilo *decorado* de gránulos líticos, permiten que las partículas virales sean atrapadas y eliminadas de manera local; no obstante, su función aún es tema de debate.

En sentido opuesto, algunos reportes indican un papel perjudicial de los neutrófilos en las infecciones virales. Se reportó el papel preponderante de dichas células en el desarrollo de neumonía en individuos infectados con el virus de influenza H1N1 o el virus sincitial respiratorio (RSV, por sus siglas en inglés). En tales casos, una excesiva secreción de gránulos líticos, producto de una hiperactivación de los PMN, promueve un incremento en la muerte celular de las células epiteliales del pulmón debido a la degranulación y la formación NET, lo cual agrava los síntomas de la enfermedad.

Los neutrófilos son las células más abundantes en circulación. Cuando se encuentran infectados con un virus, permiten su diseminación hacia otras regiones anatómicas. Se descubrió que los neutrófilos infectados con el virus del Nilo Occidental (WNV, por sus siglas en inglés) pueden diseminar la infección hacia el sistema nervioso central, mientras que los neutrófilos infectados con cepas de influenza H5N1 pueden encontrarse en la tráquea, el intestino, el bazo o la placenta. También se propuso que podrían ser responsables de la progresión de la infección de citomegalovirus (CMV). Además, se encontró que los neutrófilos representan un sitio permisivo para la replicación viral, ya que las cepas de WNV y H5N1, así como del virus de Epstein-Barr (EBV) son capaces de replicarse de manera efectiva en su interior; por lo tanto, los neutrófilos son responsables de las altas viremias observadas en los pacientes. Dichas indagaciones fueron sustentadas por modelos de laboratorio; en éstos, la eliminación selectiva de neutrófilos promovió un incremento de la sobrevida de ratones infectados, lo mismo que una marcada disminución de los niveles de virus en circulación y de daño en los tejidos.

Otra consecuencia perjudicial para el paciente es la neutropenia ocasionada por la infección viral. Ésta se observó en pacientes infectados con EBV y HIV, debido a que se inician procesos de apoptosis en neutrófilos a consecuencia de la integración del genoma viral en su núcleo celular. La neutropenia también se asocia con niveles reducidos de fagocitosis, migración y generación de ROS, y se ha relacionado con un aumento de la susceptibilidad a infecciones oportunistas.

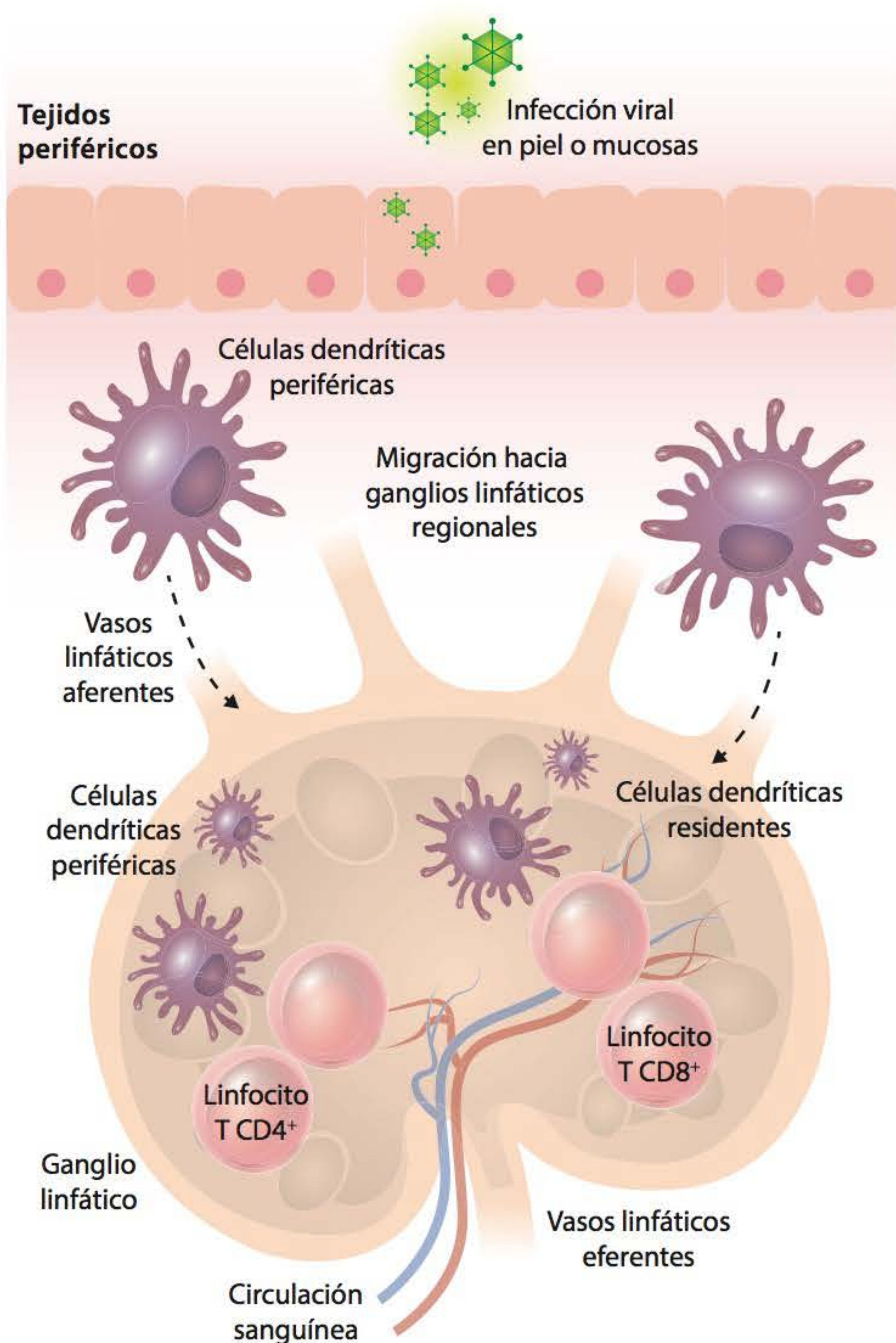
Entre los principales tipos leucocitarios atraídos por los neutrófilos al sitio de infección, con el fin de responder a las infecciones virales, se encuentran las células dendríticas, los linfocitos T y las células NK. Las células NK se relacionan con una importante función en el establecimiento de estados antivirales en los pacientes, ya que reconocen las células infectadas y promueven su eliminación. En pacientes infectados con HBV, HPV, HSV o CMV se describió que las células NK poseen la capacidad de activarse al detectar la ausencia de moléculas MHC-I y promover la muerte de las células infectadas. Entre los mecanismos que llevan a cabo las células NK para producir la apoptosis en su célula blanco se encuentran la secreción de factores citotóxicos, como perforinas y granzimas, y la expresión de ligandos de muerte extracelular (p. ej., TNF y TRAIL).

Papel de las células dendríticas y macrófagos durante infecciones virales

Los virus pueden ingresar al hospedero a través de la superficie de la mucosa de las vías respiratorias, la mucosa intestinal, la mucosa genital y las lesiones cutáneas; también pueden ser inoculados directamente en el torrente sanguíneo por diversos vectores, como los artrópodos, la mordedura de un animal u objetos punzocortantes. Cuando los virus son inoculados en forma directa en el torrente sanguíneo, llegan al bazo y se encuentran con las APC, las cuales se encargan

de presentar péptidos a los linfocitos Th para iniciar una respuesta inmunológica sistémica.

En los tejidos periféricos, como la piel y las mucosas, los virus son reconocidos por las células dendríticas que residen de manera local. La activación de estas células depende de la infección directa con el virus, de la muerte de las células vecinas infectadas, o de las citocinas liberadas en el microambiente en respuesta a la interacción de los componentes virales con los TLR o de la interacción del genoma viral con la PKR. Durante su activación, las células dendríticas expresan el CCR7 (del inglés *CC chemokine receptor 7*, o receptor 7 para las quimiocinas CC) y migran a los ganglios linfáticos regionales, donde presentan los antígenos a los linfocitos Tc y Th e inducen su activación para iniciar una respuesta inmunológica antiviral de tipo humoral, cooperadora o citotóxica, según el virus de que se trate.



Los macrófagos y las células dendríticas son células con capacidad fagocítica que se localizan en forma estratégica en diferentes sitios anatómicos del organismo, ya que se movilizan con rapidez en respuesta a agentes quimiotáxicos y forman parte del grupo de las primeras células en arribar al sitio de infección; ahí encuentran, identifican y fagocitan microorganismos patógenos. Su actividad fagocítica les permite no sólo engullir microorganismos, sino también procesarlos y presentarlos a los linfocitos Th en el contexto molecular del MHC-II. Estos eventos involucran la producción de ROS, NOS, citocinas, quimiocinas, el reclutamiento de otras estirpes leucocitarias y la regulación de la actividad efectora de los linfocitos Th, así como del proceso inflamatorio desencadenado tras la detección de los virus. Los linfocitos Th, en consecuencia, producen factores solubles (como el IFN-γ) que activan e incrementan la actividad microbicida de los macrófagos.

Las células dendríticas poseen propiedades y habilidades que les permiten realizar varias actividades: a) activar linfocitos T *naïve*; b) realizar presentación cruzada de antígenos y c) direccionar la respuesta de los linfocitos T *naïve* hacia los distintos perfiles de subpoblaciones linfocitarias. Las células dendríticas están divididas en dos grandes poblaciones de acuerdo con su origen, distribución en los tejidos y expresión de moléculas de superficie: células dendríticas convencionales (cDC) y células dendríticas plasmacitoides (pDC). Las cDC reconocen, fagocitan, procesan, migran hacia los órganos linfoides cercanos y presentan antígenos a los linfocitos. También pueden reconocer RNA viral de doble cadena a través del TLR-3, así como RNA viral de cadena sencilla por medio de la RIG-1, y secretan interferones tipo I. Las pDC forman parte de la primera línea de defensa contra infecciones virales; expresan los TLR-7, TLR-8 y TLR-9, con lo cual pueden detectar ácidos nucleicos a nivel endosomal y producir cantidades considerables de interferones tipo I (Figura 24-3).

Figura 24-3. Ciclo de vida de las células dendríticas (DC) durante las infecciones virales
Las células dendríticas inmaduras en los tejidos periféricos forman una extensa red de vigilancia que descansa entre las células epiteliales. Las células dendríticas se encuentran estratégicamente posicionadas; esto les permite reconocer antígenos y endocitar material extracelular de forma continua. Después migran hacia los ganglios linfáticos regionales, donde adquieren el fenotipo maduro; los ganglios linfáticos también contienen células dendríticas residentes, cuyo desarrollo se da *in situ*. Ambos grupos celulares presentan antígenos de origen viral a los linfocitos T e inducen su activación y proliferación.

Por su parte, los macrófagos se caracterizan por su alta capacidad fagocítica y microbicida en los diferentes tejidos donde se localizan. Los macrófagos del seno subcapsular en los ganglios linfáticos se diferencian en particular del resto de los macrófagos, pues presentan actividad fagocítica reducida, no expresan el receptor de manosa, expresan proteínas sulfatadas y se caracterizan por la expresión del receptor tipo lectina sialo adhesina (CD169). Estos macrófagos capturan las partículas virales que llegan al ganglio linfático, lo que evita que se disemine la infección; posteriormente, dichos macrófagos se trasladan a los folículos secundarios, donde pueden estimular a los linfocitos B para iniciar una respuesta de tipo humoral.

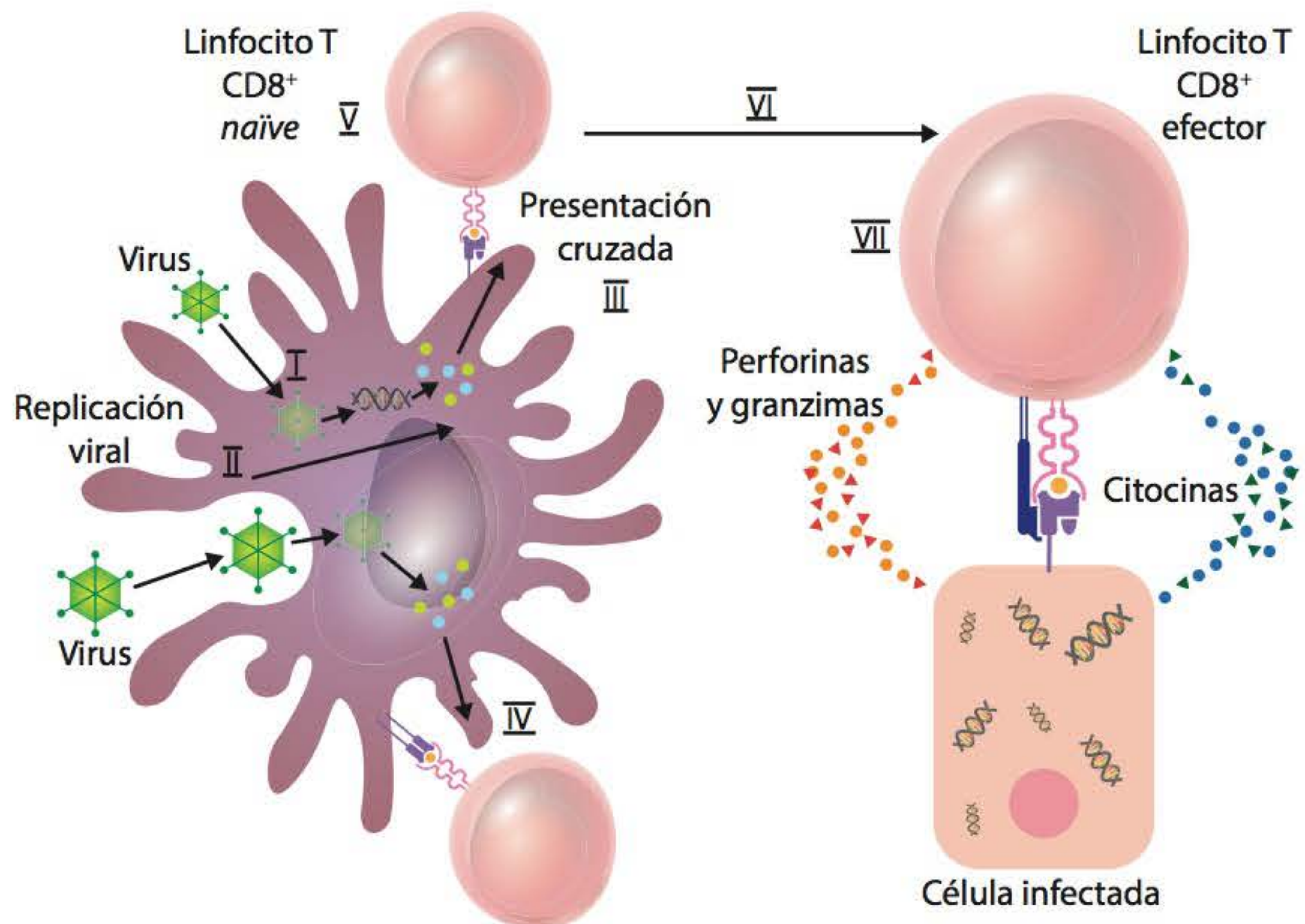


Figura 24-4. Presentación de péptidos de naturaleza viral sobre las células dendríticas (DC). Los virus pueden ingresar a las células al menos por dos vías: algunos infectan y se replican directamente en la célula hospedera; durante este proceso algunas de las proteínas son degradas a péptidos, los cuales pueden ser presentados en el contexto de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad de clase I (MHC clase I) a los linfocitos T CD8⁺ (I); por otra parte las células presentadoras de antígenos (APC) como las DC pueden capturar partículas virales o remanentes de células infectadas (II), durante el procesamiento de antígenos por parte de las APC profesionales, los péptidos de naturaleza viral pueden presentarse en el contexto de las moléculas del MHC clase I vía presentación cruzada a los linfocitos T CD8⁺ (III), a la par estos péptidos extracelulares pueden presentarse en el contexto de las moléculas del MHC clase II a los linfocitos T CD4⁺; las células dendríticas pueden ser activadas por la interacción de CD40 con CD40L seguida de la interacción del MHC-péptido con el TCR de los linfocitos T CD4⁺ (IV), esta interacción induce en las DC su maduración y la expresión de moléculas como CD80/86 quienes a su vez interaccionan con CD28 de los linfocitos T CD8⁺ "*naïve*" (V), la interacción de CD28 con CD80/86 resulta en la activación de los linfocitos T CD8⁺ (VI), quienes se diferencian hacia linfocitos T efectores que pueden reconocer el MHC clase I-péptido sobre las células infectadas por los virus, esta interacción favorece la liberación de perforinas, granzimas y citocinas como TNF-α e IFN-β (VII).

Todas las poblaciones de células nucleadas tienen la capacidad de presentar antígenos en el contexto molecular del MHC-I, pero la presentación de antígenos virales está restringida a ciertas subpoblaciones locales en los sitios de infección. Los antígenos que se presentan en el contexto molecular del MHC se clasifican en exógenos (aquellos que son tomados del exterior de las células) y endógenos (aquellos que son sintetizados dentro de la propia célula). En condiciones basales, los péptidos endógenos derivan de componentes de la maquinaria celular (como proteínas endocíticas, membranales y citosólicas), por lo que las células dendríticas presentan en su constitución péptidos derivados de sus propios componentes. Cuando las células se infectan con virus, se inhibe la síntesis de proteínas propias y se favorece la síntesis de las proteínas virales que dan lugar al virión. Lo anterior permite que se incorporen péptidos virales en las moléculas del MHC-I y su eventual presentación, a la vez que ésta induce la expresión de moléculas de coestimulación y favorece que se activen los linfocitos Tc. Así, da inicio una respuesta antiviral antigenoespecífica. Existen algunos virus, como el de la influenza, que no interfieren de manera directa en la presentación de antígenos, aunque son citopáticos y cuando infectan las células dendríticas inducen su apoptosis. Otro grupo de virus, por ejemplo los que causan infecciones persistentes, interfieren el adecuado funcionamiento de las vías de procesamiento antigénico (Figura 24-4).

La activación de los linfocitos Tc vírgenes y de memoria que responden tras infecciones localizadas por virus, como el HSV y el virus de la influenza, está mediada en gran parte por la actividad de las células dendríticas. Éstas presentan antígenos que derivan de la infección viral interna, o péptidos provenientes de los virus que infectaron alguna otra estirpe celular; en este último caso los péptidos son expuestos a los linfocitos Th por presentación cruzada. Algunos virus, entre otros el virus vaccinia (VV), el virus de la estomatitis vesicular (VEV) y el virus de la coriomeningitis linfocítica (CMLV), que tienen la capacidad de infectar varias estirpes celulares pueden ser presentados a los linfocitos Tc por células no hematopoyéticas e inducir una respuesta de linfocitos Tc moderada. La respuesta celular inducida por las células dendríticas depende de su localización anatómica, del tamaño de la partícula viral, de la capacidad del virus para invadirlas, así como

de su capacidad intrínseca para capturar y presentar antígenos. Por ejemplo, durante la infección cutánea por el HSV, las células dendríticas dérmicas tienen un papel crucial en la activación de los linfocitos Tc, mientras que en las infecciones por el virus de la influenza, las células dendríticas CD8+ se encargan de la captura, el procesamiento y la presentación de antígenos a los linfocitos.

Respuesta de linfocitos T durante las infecciones virales

Las APC que residen en el sitio de la infección capturan partículas virales o remanentes de células infectadas y presentan antígenos, en el contexto molecular del MHC-II, a los linfocitos Th. De acuerdo con el perfil de citocinas que producen, los linfocitos Th están clasificados, hasta el momento, en las siguientes subpoblaciones: Th1, Th2, Th17, Treg y linfocitos Tfh. Los linfocitos Th1 se caracterizan por la producción de IL-12 e IFN-γ; los linfocitos Th2 por la producción principalmente de IL-4, IL-5 e IL-13; los linfocitos Th17 por la producción de IL-17, IL-21 e IL-23, y los linfocitos Treg por la producción de IL-10 y TGF-β. Los linfocitos Tfh, a su vez, se clasifican en linfocitos Tfh1 (que secretan IFN-γ y promueven la producción de anticuerpos de subclase IgG2a); en linfocitos Tfh2 (los cuales producen IL-4 y favorecen la producción de anticuerpos de IgG1 de IgE), y en linfocitos Tfh10 (que producen IL-10, lo que promueve la producción de anticuerpos de clase IgA).

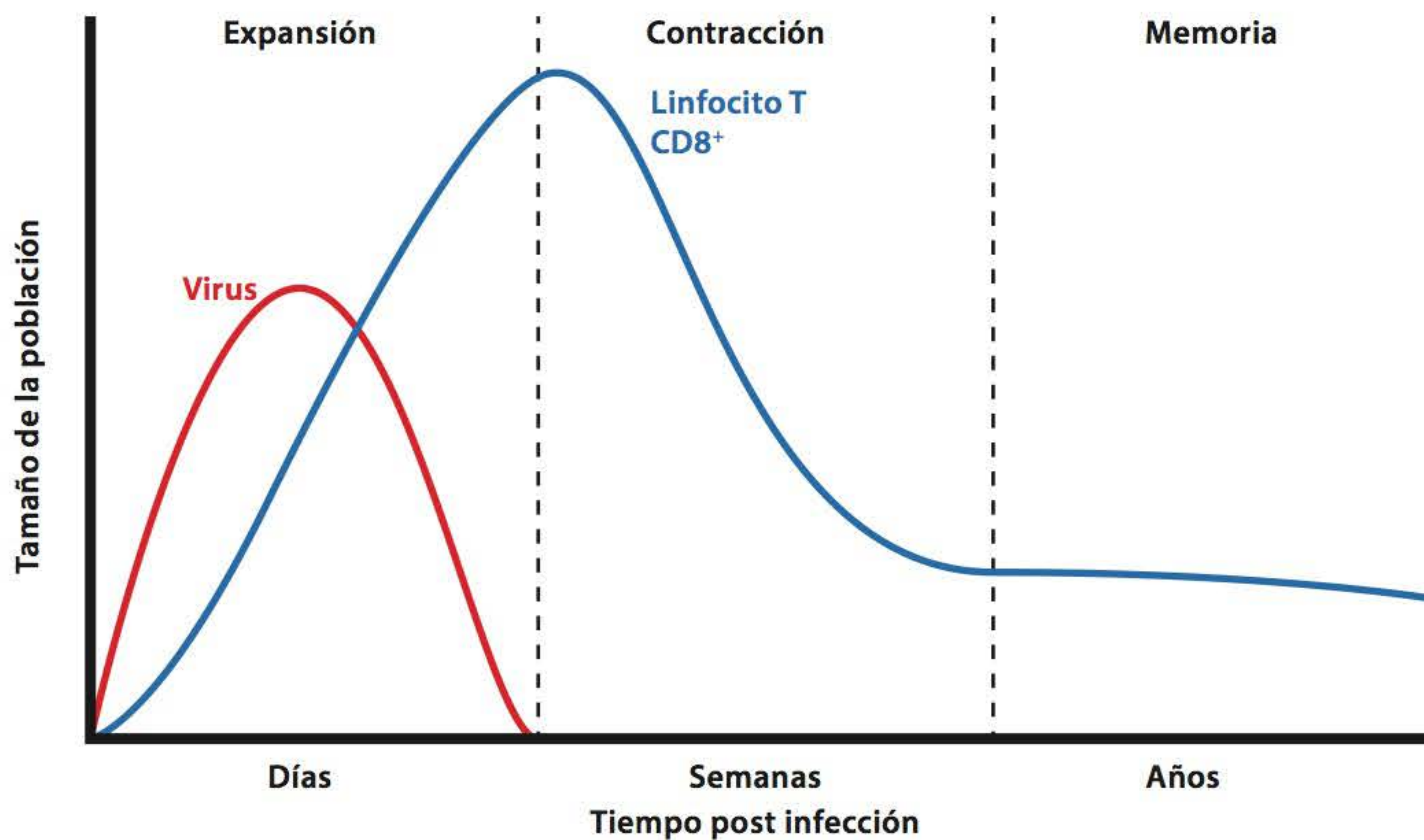
Además de las funciones efectoras de los linfocitos Th, estas células interaccionan con los linfocitos Tc por medio de la interacción de estos últimos con las células dendríticas, ya que a través de la unión de CD40L con CD40 se induce en las células dendríticas la expresión de moléculas como CD80 y CD86. Éstas son reconocidas por el CD28 expresado por los linfocitos Tc *naïve*, lo que genera la proliferación y diferenciación hacia linfocitos Tc efectores.

Existen tres fases que caracterizan la respuesta de los linfocitos Tc: a) fase de activación y expansión; b) fase de contracción o de muerte por apoptosis y c) fase de establecimiento y mantenimiento de la memoria inmunológica (Figura 24-5).

Durante la primera fase los linfocitos Tc efectores son capaces de ejercer su actividad citotóxica sobre las células infectadas por virus mediante dos vías: la liberación de gránulos que contienen perforinas y granzimas, y la inducción en la expresión del ligando de Fas (CD95L), que les permite inducir apoptosis por agregación de Fas (CD95) en las células infectadas.

Los linfocitos Tc disminuyen la expresión de CCR7 y CD62L; esto hace posible que abandonen los órganos linfoides y migren hacia los tejidos infectados. También producen y secretan TNF-α e IFN-γ, así como quimiocinas que les permiten reclutar y/o activar otras células efectoras (macrófagos y neutrófilos). Varias infecciones virales son resueltas cuando la respuesta inmunológica alcanza su pico máximo de actividad; después se presenta una fase llamada silenciamiento de la respuesta inmunológica, caracterizada por apoptosis de gran número de linfocitos T efectores, la migración de los linfocitos T desde los órganos linfoides hasta los tejidos periféricos y la conversión de una respuesta efectora a una respuesta de memoria. Cerca de 5 a 10% de los linfocitos Tc efectores que expresan altos niveles de la molécula CD27 y el receptor para IL-17 (IL-17R) no mueren por apoptosis, y se consideran los precursores de la población de linfocitos Tc de memoria, a diferencia de la población de linfocitos Tc que expresan bajos niveles de CD27 y sí mueren por apoptosis. Los linfocitos Tc de memoria se caracterizan por tener bajas cantidades de granzima B y altos niveles de Bcl-2.

En general, se considera que para que una respuesta antiviral sea eficiente se requiere una respuesta de tipo celular. Algunos virus tienen la capacidad de inhibir esta última al disminuir la expresión de interferones; tal manipulación de la respuesta inmunológica influye el resultado de la infección. Por ejemplo, en las infecciones por los virus de hepatitis, la manipulación de la respuesta inmunológica puede favorecer infecciones persistentes en las que el hospedero es incapaz de eliminar al virus. La infección por el virus de la coriomeningitis linfocítica (CMLV) es uno de los modelos más utilizados en ratón para evaluar el papel de los linfocitos Th y Tc durante la infección aguda o crónica; los ratones deficientes de linfocitos Tc desarrollan una infección persistente, mientras que los ratones con deficiencia de linfocitos Th desarrollan una infección crónica aun en presencia de linfocitos Tc. El resultado del análisis de este modelo concluye que, en el curso de una infección aguda, los linfocitos Tc son necesarios para controlar la infección, pero requieren la cooperación de los linfocitos Th. Durante una infección crónica en la que el hospedero es incapaz de eliminar el virus, los linfocitos Tc se encargan de retrasar la progresión de la enfermedad y limitar la gravedad de la misma. Un ejemplo es la baja en los niveles de linfocitos Tc en pacientes con HIV, que está asociada a la progresión de la enfermedad. Los linfocitos T son cruciales para limitar la infección cuando los virus son capaces de evadir de manera temporal la respuesta inmunológica humoral, en tanto que los



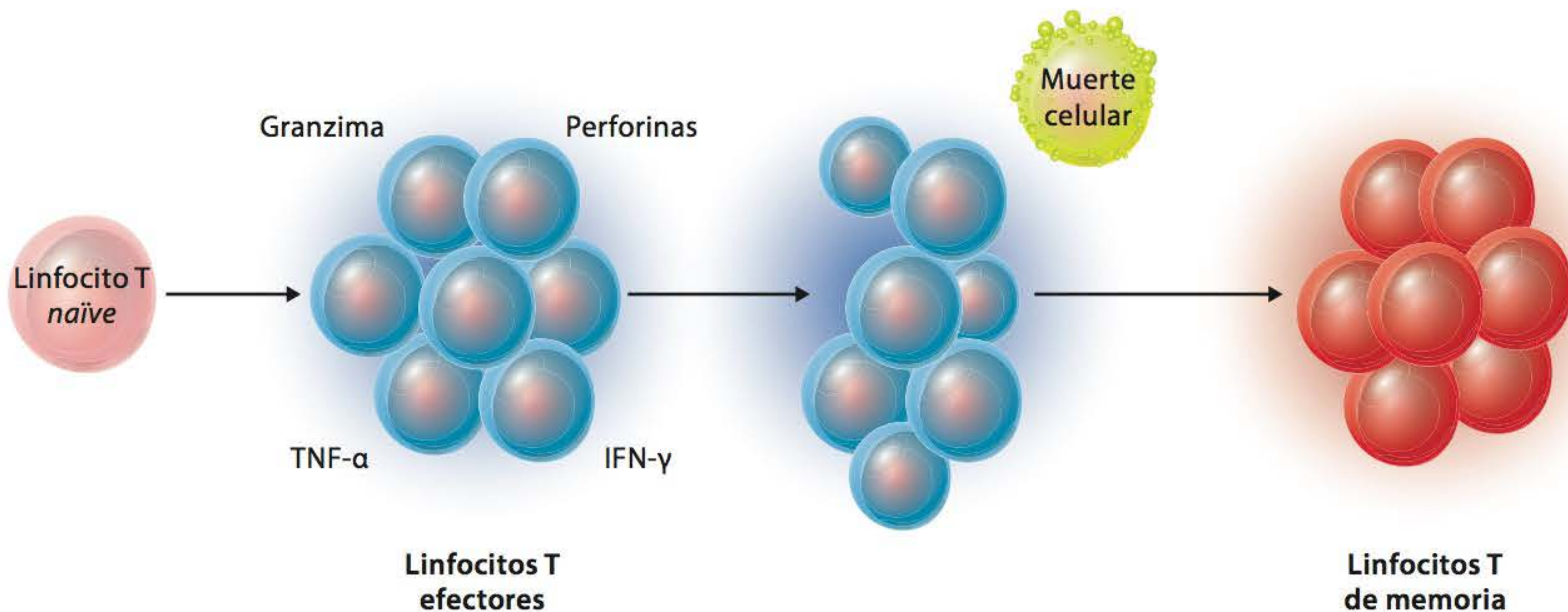


Figura 24-5. Cinética de diferenciación de linfocitos Tc durante infecciones de naturaleza viral.
Tras la presentación de antígenos virales a los linfocitos T *naïve*, éstos proliferan y se diferencian (fase de expansión) a linfocitos T efectores capaces de secretar granzimas, perforinas y moléculas proinflamatorias, como TNF-α e IFN-γ. Una vez eliminadas las partículas virales, un alto porcentaje de linfocitos T efectores (linfocitos Tc, en color azul) sufren apoptosis (fase de contracción), mientras que sólo de 5 a 10% de linfocitos T efectores (linfocitos Th, en color naranja) se diferencian a linfocitos T de memoria (en color rojo).

linfocitos Th favorecen el reclutamiento de los linfocitos Tc hacia el pulmón.

Los linfocitos Tc antigenoespecíficos para el virus de la influenza median la eliminación viral a nivel pulmonar a través de la liberación de perforina y lisis mediada por Fas. La expresión de ciertas moléculas por parte de estos linfocitos es crucial, ya que en ausencia de CD27 disminuye la respuesta primaria y de memoria por parte de los linfocitos Tc. El bloqueo de CD28 reduce el número de linfocitos Tc, así como la cantidad de IFN-γ producida en los pulmones infectados, mientras que la molécula 4-1BBL es necesaria para mantener el número de linfocitos Tc que da origen a los linfocitos Tc de memoria.

Se sugiere que los linfocitos Treg naturales pueden beneficiar al hospedero en el curso de algunas infecciones virales, ya que minimizan el daño a los tejidos ocasionado por los componentes de la respuesta inmunológica. Esto se da por medio de dos posibles mecanismos: los linfocitos Treg naturales reducen la migración de los linfocitos T efectores de los ganglios linfáticos hacia los sitios de inflamación y, a su vez, migran al sitio y favorecen el control de la inflamación. Se ha propuesto que la activación de los linfocitos Treg naturales durante las infecciones virales puede ser resultado de la interacción de los componentes del virus con receptores como los TLR, de la interacción de las proteínas propias (producto de la lisis de células infectadas con virus) con los TLR de los linfocitos Treg, de la acción de citocinas y mediadores que actúan de modo directo sobre éstos, o de la posible activación de linfocitos Treg naturales antigenoespecíficos.

Respuesta inmunológica humoral a virus

Las estructuras virales que no son procesadas pueden ser reconocidas por los linfocitos B mediante el BCR; la interacción de los linfocitos B con estos antígenos y las señales coestimuladoras conducen a su activación. Luego de ésta, los linfocitos B pueden tomar dos caminos: localizarse en las áreas extrafoliculares ricas en linfocitos T de los ganglios linfáticos, o diferenciarse a células plasmáticas productoras de anticuerpos. A lo largo de la respuesta primaria, estas células plasmáticas producen y secretan IgM, mientras que en la respuesta secundaria se promueve el cambio de isotipo y las células plasmáticas producen y secretan IgG o IgA.

El tiempo de vida media de estas células plasmáticas es de unos 3 a 4 días, durante los cuales los linfocitos B activados pueden ingresar a los ganglios e iniciar la formación del centro germinal. La formación de dicho microambiente especializado es esencial para la respuesta de anticuerpos con tiempos de vida media más largos y la diferenciación hacia linfocitos B de memoria. La diferenciación extrafolicular hacia células plasmáticas de vida corta ocurre de forma independiente de la interacción con los linfocitos T, en tanto que la diferenciación hacia células plasmáticas de larga vida y hacia linfocitos B de memoria depende de la cooperación con los linfocitos Th. La migración hacia los folículos está mediada por la expresión de CXCR5 en los linfocitos B; esto les permite responder a la BLC (del inglés *B Cell Chemo Attractant*, o quimiocina de linfocitos B), que se expresa en los ganglios por células no linfoides; por ejemplo, las células dendríticas foliculares.

La expresión del CD40L en los linfocitos T activados es crucial para el establecimiento y mantenimiento del centro germinal. La interacción de CD40, expresada en los linfocitos B con el CD40L de los linfocitos T, rescata los linfocitos B de la apoptosis dentro del centro germinal, al inducir la expresión de algunos genes presentes durante estadios tempranos de su desarrollo, como los Rag-1, Rag-2, GL-7 y el receptor PNA (del inglés *Peanut Agglutinin*, o aglutinina de cacahuate).

En los ganglios linfáticos, los linfocitos B proliferan con rapidez en la zona clara de los folículos, donde se lleva a cabo la hipermutación somática y el cambio de isotipo. Estos procesos requieren de la expresión de la AID (del inglés *Activation-Induced Cytidine Deaminase*, o citidina deaminasa inducida por activación). Después, los linfocitos B migran hacia la zona clara de los folículos; allí se realiza un proceso de selección, las células dendríticas foliculares reconocen la interacción de antígenos y moléculas de coestimulación, como CD40L, y con ello proveen señales de supervivencia para los linfocitos B que cuentan con un BCR de afinidad dada. En ausencia de estas señales, los linfocitos B se destruyen por apoptosis. Se ha notado que otras moléculas como la SAP (proteína asociada con SLAM, molécula de activación de linfocitos) pueden tener una función importante en la formación de centros germinales, ya que los linfocitos B de animales (cuyos linfocitos T carecen de SAP) no se diferencian de las células plasmáticas de vida larga ni de los linfocitos B de memoria. En humanos, la deficiencia de SAP se manifiesta en forma de una enfermedad mieloproliferativa, que se caracteriza por anormalidades en los anticuerpos y mononucleosis fatal asociada a la infección por el EBV.

Los antígenos virales pueden encontrarse en las células dendríticas foliculares por varios meses, lo que repercute en el tiempo de vida de los centros germinales y puede ocasionar títulos elevados de anticuerpos, aun si el virus fue eliminado. El tiempo de aparición de los anticuerpos con actividad neutralizante durante las infecciones virales varía. En algunos virus (p. ej., el virus de estomatitis vesicular (VSV), el rotavirus y el virus de la influenza en ratón, o el virus de la fiebre amarilla en humanos) los anticuerpos neutralizantes aparecen en la primera semana posterior a la infección, en tanto que durante las infecciones por HIV, HBV o virus de la coriomeningitis linfocítica, surgen varios meses después.

La hipermutación somática (evento que provoca la modificación de la afinidad de los anticuerpos)

y el cambio de isotipo de anticuerpos son procesos que dependen de la presencia del centro germinal. El cambio de isotipo está muy influenciado por la presencia de ciertas citocinas; por ejemplo, en infecciones virales agudas predomina la producción de la IgG2a, ya que las células NK y los linfocitos Th producen IFN-γ. Los cambios en la condición de la infección viral también pueden influir en el cambio de isotipo; en el curso de la infección aguda por el virus de la coriomeningitis linfocítica predomina la producción de IgG2a, mientras que en ratones que adquieren la infección de forma congénita (cuyos linfocitos Th son tolerantes a la infección) se favorece la secreción de anticuerpos de clase IgG1 durante la infección persistente. Ciertos virus favorecen el cambio de isotipo independientemente a la cooperación de los linfocitos Th al inducir la producción de IFN-α, IFN-β o de CD40L; éstos son reconocidos por las células dendríticas, con lo que se favorece en las mismas la expresión de moléculas que pertenecen a la familia del TNF, como Blys y APRIL, y que en presencia de IL-10 y TGF-β inducen el cambio de isotipo de los anticuerpos.

Mecanismos de evasión de la respuesta inmunológica

Evasión del reconocimiento durante la entrada del virus a su célula blanco

Ciertos virus han desarrollado estrategias que les permiten entrar a las células por vías *permisivas* que, por lo general, no desencadenan respuestas inmunológicas. Entre tales estrategias se ha descrito la utilización de vías de endocitosis mediadas por clatrina y caveolina por virus sin envoltura celular (algunos son los picornavirus, adenovirus, papilomavirus y el HCV). Luego de su entrada a la célula, el virus debe evadir su degradación en el lisosoma; este compartimiento celular representa un ambiente bastante hostil para los virus por el pH ácido cercano a 4.0, así como por una combinación de cerca de 50 diferentes proteasas, lipasas, DNsas e hidrolasas, y diferentes ROS, RNS (del inglés *Reactive Nitrogen Species*) y halogenuros. El primer mecanismo de evasión consiste en alterar las señales de ubicación celular del virus, con lo que escapa del ambiente lisosomal y permite la disociación de su cápside para liberar su genoma. Esta estrategia no sólo es utilizada por virus desnudos, sino también por virus con envoltura, entre otros los herpesvirus, coronavirus, flavivirus, togavirus y retrovirus. Lo anterior da indicios de la conveniencia de dicha vía para evitar el reconocimiento del sistema inmunológico y el establecimiento de una respuesta antiviral, al mismo tiempo que se asegura la liberación de su genoma en el momento adecuado.

Otras estrategias descritas que usan los virus para invadir sus células blanco son la invasión por macropinocitosis y la penetración directa. La macropinocitosis es utilizada como vía de entrada de algunos adenovirus y *Vaccinia virus*; representa un mecanismo constitutivo en muchas estirpes celulares en las que la entrada de partículas es independiente de receptores Fcγ, receptores de complemento, clatrina, caveolina o dinamina. Además, se ha observado que las moléculas que entran en esta vía no colocalizan para su fusión membranal con marcadores clásicos endosomales (como EEA1 [por sus siglas en Inglés *Early Endosomal Antigen 1*]), o marcadores lisosomales (p. ej., Lamp2 [por sus siglas en inglés *Lysosomal-Associated Membrane Protein 2*]) o pH ácido. Esto garantiza al virus una vía *segura* de entrada. Una estrategia más es la entrada mediante la penetración directa que realizan algunos virus envueltos (alphavirus y flavivirus); el hecho de fusionar su membrana con la de las células hospederas les permite liberar su genoma directamente al citoplasma y, así, evitar los mecanismos de reconocimiento ubicados en la membrana de las células del hospedero (véase Figura 24-2).

Mecanismos de evasión viral contra receptores de reconocimiento intracelular de RNA

Los RNA virus han desarrollado estrategias para evitar la activación de las vías mediadas por interferón. Se encontró que los rotavirus y los arenavirus, mediante sus NSP (del inglés *Non-Structural Proteins*, o proteínas no estructurales), codifican en su genoma proteínas con la función de inhibir las vías de interferón en diferentes niveles. La nucleoproteína de los arenavirus con actividad de exonucleasa3'-5' es capaz de degradar RNA viral de doble cadena o de cadena sencilla para evitar el reconocimiento por la RIG-1 o la MDA5; también interactúa con la IKK-ε para inhibir la activación del complejo TBK1/IKK-ε. Así, interfiere con la fosforilación y activación del IRF3 o el IRF7, y se observó que puede inhibir de modo directo la activación del factor NF-κB al no permitir

Recuadro 24-1. Virus de la hepatitis C

El virus de la hepatitis C (HCV) es miembro de la familia Flaviviridae. Mide de 30 a 38 nm, tiene envoltura y un genoma de RNA (+) de cadena sencilla, el cual codifica una sola poliproteína que se traduce en proteínas estructurales (C, E1, E2 y p7) y no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5B). No es citopático, tiene tropismo por los hepatocitos y es el agente causal de la hepatitis crónica y el carcinoma hepatocelular.

En la actualidad, más de 170 millones de personas en el mundo están infectadas con el HCV. Por lo general, la infección aguda suele ser asintomática, lo cual dificulta el diagnóstico temprano. Una característica importante de la infección por HCV es su tendencia hacia la cronicidad: alrededor de 70% de las infecciones agudas se vuelven persistentes y los casos crónicos regularmente se asocian con daño hepático grave.

La vía más frecuente de transmisión del virus es la parenteral; también se transmite por las vías sexual y perinatal. Los factores de riesgo para contraer la infección incluyen antecedentes de transfusiones, drogadicción intravenosa, enfermedad renal que requiere hemodiálisis crónica, contacto personal y cercano con personas infectadas. El HCV se considera un virus oportunista en individuos infectados con HIV, alrededor de 25% de las personas infectadas con HIV están coinfectadas con HCV. Esta condición favorece altos títulos de HCV y una progresión más rápida hacia la cirrosis.

Ciclo de vida del HCV

Las partículas víricas circulantes se unen a receptores de la superficie de los hepatocitos y se sugiere que los receptores CD81 y el receptor *scavenger* tipo BI (SR-BI) participan en el reconocimiento del HCV y favorecen su ingreso a la célula. Una vez dentro de ésta, el HCV utiliza la maquinaria intracelular para llevar a cabo su replicación. El genoma vírico se traduce y se forma una poliproteína, la cual es segmentada por la acción de las proteasas en proteínas estructurales y no estructurales. Luego, las proteínas estructurales reconducen el genoma vírico a un complejo de replicación de RNA asociado a membranas citoplásmicas reorganizadas; la replicación del RNA viral se realiza gracias a la proteína NS5B, una RNA polimerasa que produce una hebra de RNA (–) que sirve como molde para la síntesis de hebras de RNA (+). Estos nuevos genomas pueden ser replicados otra vez y traducidos o empaquetados para formar nuevas partículas víricas; se sugiere que éstas son liberadas por exocitosis.

Patogenia

La respuesta inmunológica celular es, en buena parte, responsable de que aparezcan las lesiones tisulares y, en su caso, de la resolución de la enfermedad. Algunos eventos que se observan durante la infección crónica (p. ej., la baja considerable de la cantidad de linfocitos Tc) podrían influir en la resolución de la infección. Ciertos parámetros (como la fibrosis portal y periportal, lo mismo que la necrosis perilobulillar y el infiltrado linfocitario en las biopsias hepáticas) se emplean para clasificar la gravedad de la enfermedad. Se sugiere que la producción de citocinas inducida por la inflamación, la continua reparación del hígado y la inducción de la proliferación celular que se produce durante la infección crónica constituyen factores que predisponen al desarrollo de carcinoma hepatocelular.

Respuesta inmunológica innata a HCV

Tras su entrada al organismo, el HCV se disemina con rapidez en el hígado y, por lo tanto, se espera que la respuesta inmunológica innata influya en el resultado de la infección. Los resultados obtenidos en análisis genómicos durante una infección aguda en chimpancés, sugieren que el HCV induce fuertemente la producción de interferones tipo I como respuesta a su diseminación, y es capaz de resistir las funciones efectoras de los productos de los genes que induce. Conviene hacer notar que la respuesta es similar en los animales que son capaces de eliminar la infección y en aquéllos en los que la infección se vuelve persistente. Esto indica que la influencia de la respuesta inmunológica innata en el resultado de la infección puede ser indirecta, aunque su función no está del todo definida. De cualquier forma, se especula que tal tipo de respuesta tiene algún papel durante la infección por HCV, ya que el virus ha desarrollado una serie de estrategias para evadirla.

Respuesta inmunológica adaptativa a HCV

El RNA viral del HCV se detecta en el plasma durante los primeros días de la infección, y alcanza un punto máximo entre las semanas 6 y 10, sin importar el resultado final de ésta. Un patrón de viremia pobremente controlada predice persistencia, la cual puede ser explicada, al menos en parte, por la falla de algunos individuos para generar respuestas detectables de linfocitos Th y Tc. Algunos individuos controlan de forma transitoria o incluso permanente la replicación viral a

lo largo de la enfermedad. Se ha observado que tales eventos suelen estar asociados con el inicio tardío de las respuestas específicas de los linfocitos Th y Tc; las viremias como recaídas podrían considerarse el preludio de la persistencia viral.

La hepatitis C aguda se presenta quizá por cuestiones inmunopatológicas, dado que el daño coincide con la expansión de los linfocitos Tc antigenoespecíficos y su consecuente adquisición de fenotipo maduro. En ciertos casos, la infección aguda se resuelve sin mostrar elevación en los niveles de transaminasas séricas. Este hecho podría reflejar un control no citolítico, aunque existe la posibilidad de que sólo unos pocos hepatocitos estén infectados, lo que limita el daño hepático debido a que no se requiere una respuesta citotóxica intensa.

Los linfocitos Tc específicos para HCV pueden sobrevivir durante varios años en un hígado con infección persistente y, tal vez, controlar de modo parcial la replicación viral o contribuir a la progresión de la enfermedad. Con respecto a la replicación viral, cabe señalar que los niveles de viremia se mantienen relativamente estables con el paso del tiempo en individuos con infecciones crónicas, aunque varían mucho entre ellos. Aún no está del todo dilucidado si los linfocitos Tc contribuyen al control de la replicación del HCV du-

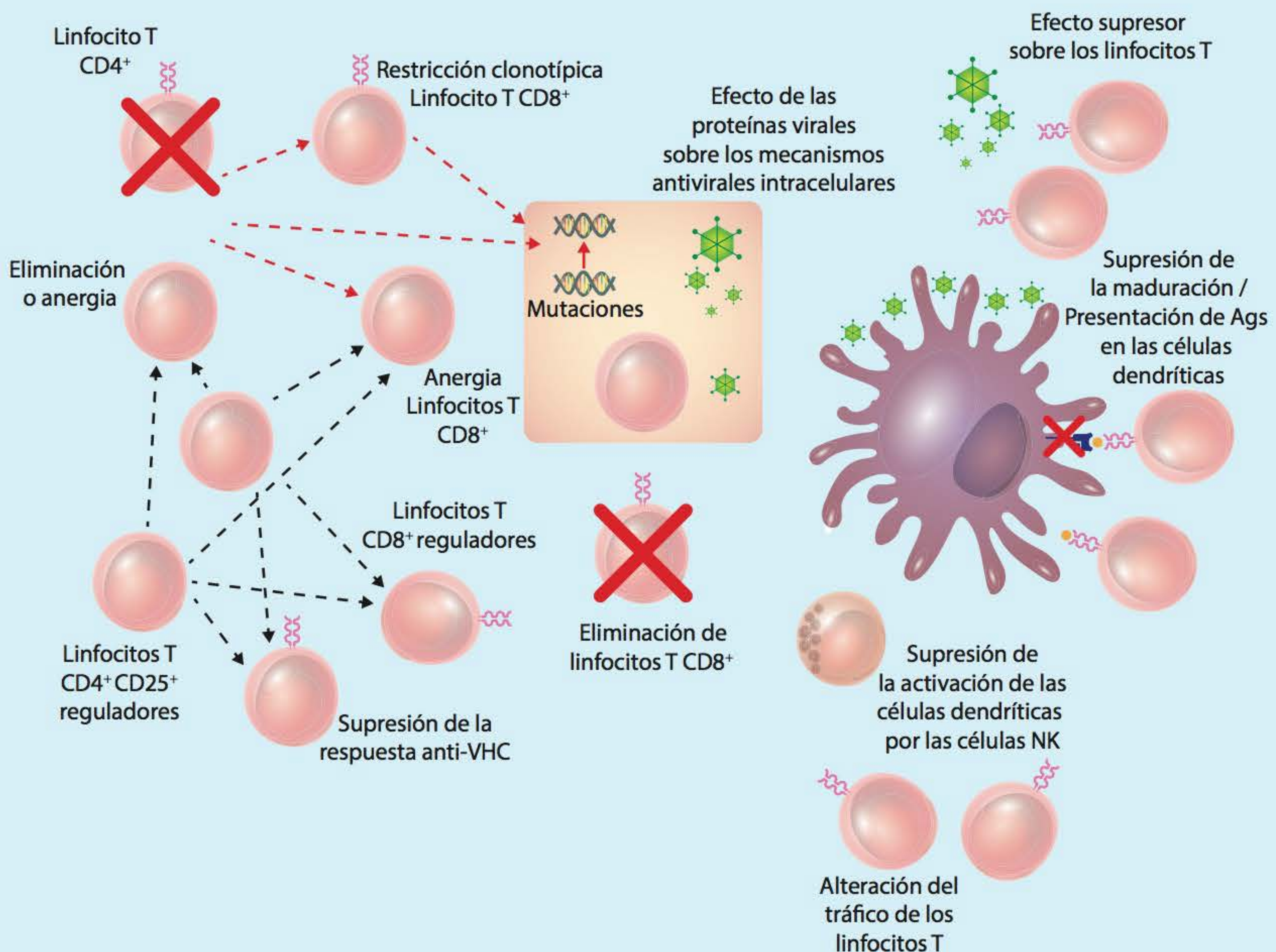


Figura 24-1-1. Mecanismos de evasión del HCV
Posibles mecanismos de evasión del sistema inmune por el virus de la hepatitis C. Las líneas rojas representan los mecanismos basados en datos de experimentación *in vivo*; las líneas de puntos indican que aunque los mecanismos indicados pueden estar implicados en la persistencia viral, sus vías siguen sin estar del todo claras; las cruces indican la supresión de las células, mientras que los círculos indican la inhibición tanto de la maduración como de la presentación de antígenos por parte de las células dendríticas.

Recuadro 24-1. Virus de la hepatitis C (continuación)

rante la infección crónica o si, por el contrario, su presencia está asociada a las variaciones en la viremia. Algunos estudios documentan la asociación entre los niveles elevados de transaminasas y la infiltración de linfocitos Tc, pero es posible que sólo una minoría del infiltrado corresponda a células antigenoespecíficas. Otros estudios relacionan los niveles de mRNA de citocinas proinflamatorias a nivel hepático con la intensidad de la inflamación portal y la fibrosis hepática, pero falta esclarecer la identidad de la fuente celular de citocinas en el curso de la hepatitis crónica. Es posible que el reclutamiento de otras estirpes celulares que pueden mediar el daño tisular (como los macrófagos) intervenga durante la hepatitis crónica.

Linfocitos T de memoria

La respuesta de memoria de los linfocitos T puede explicar en gran medida la baja persistencia en humanos con historial de resolución de hepatitis C aguda. Varios trabajos evidenciaron que los chimpancés inmunizados también suelen ser susceptibles a reinfecciones, pero con un marcado descenso en la duración del punto máximo de la viremia, que coincide con una respuesta masiva de linfocitos Th y Tc de memoria.

Mecanismos de persistencia

A pesar de que cuentan con un soporte experimental limitado, se han propuesto algunos mecanismos (muy atractivos conceptualmente) acerca de las alteraciones en la respuesta inmunológica celular que favorecen la persistencia del HCV. El primer mecanismo considera la incapacidad de los linfocitos T efectores para migrar al hígado infectado; el segundo, las alteraciones durante la presentación de antígenos. Éste amerita atención debido a que podría explicar defectos en la respuesta inmunológica, los cuales van desde la ausencia aparente de linfocitos T específicos en algunos individuos hasta un retraso sustancial o una respuesta no sostenida. Se sabe que las células NK pueden ser importantes activadoras de las células dendríticas; varios datos recientes indican que ciertas señales de regulación negativa enviadas a las células NK durante la infección persistente podrían interrumpir su habilidad para mediar la maduración de las células dendríticas. El proceso de inhibir la presentación de antígenos durante la infección por HCV podría llevarse a cabo por medio de las proteínas virales sobre las células dendríticas. Los defectos transitorios en las funciones de las células en el curso de la hepatitis aguda podrían ser suficientes para alterar el tiempo de respuesta o la intensidad de los linfocitos T, y así favorecer la persistencia.

Otros tres mecanismos de evasión de la respuesta inmunológica incluyen el escape por mutación de epítopes, la regulación y la anergia de los linfocitos T. Dichos mecanismos cuentan con mayor soporte experimental, pero su función en la persistencia de la infección no está del todo esclarecida.

la degradación de Iκ-Bα, que es necesaria para su translocación al núcleo. Por otra parte, la proteína Z de los arenavirus puede inhibir las vías de señalización promovidas por la RIG-1 al interactuar de manera directa con éste.

Los rotavirus, por medio de la expresión de su NSP1, tienen la capacidad de inhibir las vías de activación de interferones en diferentes niveles, de forma similar a la descrita para los arenavirus. El NSP1 promueve la degradación de IRF3 e IRF7; se notó que distintas especies de rotavirus son capaces de inducir la degradación de β-TrCP, un factor esencial para la activación de NF-κB e IRF, así como de inhibir la acumulación nuclear del STAT1, lo que impide el establecimiento de un estado antiviral autocrino y paracrino.

Mecanismos de evasión viral contra receptores de reconocimiento de DNA

Los virus de DNA desarrollaron diversas estrategias que les permiten replicarse y evadir el reconocimiento celular. Existen reportes de una serie de proteínas en los genomas de los papilomavirus y los herpesvirus que les permiten inhibir las respuestas mediadas por interferones y por los productos de los ISG. Las proteínas ICP0 (del inglés *Infected-Cell Polypeptide*, o proteína de la célula infectada 0) e ICP27 se expresan en la etapa temprana e intermedia, respectivamente, de la infección con herpesvirus; la ICP0 se une en forma directa al IRF3 y el IRF7, en tanto que el

mecanismo de la ICP27 aún no se ha descrito. Ambas proteínas también poseen la capacidad de inhibir la activación del factor NF-κB, aunque esto se realiza por diferentes mecanismos.

Se sabe que la presencia de ICP0 en el núcleo origina la translocación de la proteasa USP7 (del inglés *Ubiquitin-Specific Protease 7*, o proteasa específica de ubiquitina 7) hacia el citoplasma, lo cual impide la acción del TRAF6 y el IKKγ al inhibir la actividad del factor NF-κB. A su vez, lo anterior promueve la degradación específica de la MyD88 y del adaptador Mal/TIRAP, e inhibe la señalización iniciada por el reconocimiento del DNA viral por TLR-9.

La ICP27 estabiliza al inhibidor IκB, ya que impide su degradación. Un mecanismo similar se observó en las infecciones mediadas por herpesvirus, los cuales son capaces de inhibir las vías mediadas por el complejo TBK1/STING mediante la expresión de la proteína $\gamma_1 34.5$; ésta inhibe la activación del factor NF-κB al inhibir también la fosforilación del complejo IKKα/β. De forma homóloga a lo antes descrito para la nucleoproteína de los arenavirus, los herpesvirus codifican la proteína vhs con función de ribonucleasa de mRNA viral y celular, lo que conlleva una atenuación de las vías JAK y STAT, así como de la función de la polimerasa de RNA III, y el reconocimiento mediado por la PKR al inhibir la secreción de IFN-α e IFN-β y de los genes mediados por interferón. La inhibición de la activación del inflamasoma también se ha descrito para varias cepas de herpesvirus, ya que la proteína ICP0 promueve la degradación de IFI16 e impide la activación del inflamasoma; además, la ICP0 inhibe la formación de inflamasoma mediado por NLRP3, aunque no se ha determinado el mecanismo involucrado.

Por su parte, se ha observado que el HPV codifica la hidrolasa UCHL1 (del inglés *Ubiquitin-Carboxyl Terminal Hydrolase L1*), la cual poliubiquitina el factor TRAF3, reduce la fosforilación de IRF3 e inhibe la fosforilación del modulador p65 del factor NF-κB.

Evasión de los virus a la acción de la teterina

Algunos virus han desarrollado estrategias para inhibir la acción de la teterina; entre éstas destaca la codificación de una serie de proteínas por parte de los retrovirus.

Un ejemplo es la proteína Vpu codificada por varios lentivirus, que se asocia mediante sus dominios transmembranales con la teterina, lo que promueve su degradación dentro de los lisosomas y/o en los proteosomas. Por otro lado, aunque no se ha observado en todos los casos una degradación completa de la teterina, es aceptado que Vpu es capaz de secuestrar la teterina de su localización al inhibir su actividad. La proteína retroviral Nef inhibe la actividad de la teterina al interactuar con su dominio intracelular, lo que promueve su endocitosis al eliminarla en las membranas. La proteína Env del HIV2 es capaz de secuestrar la teterina en el trans-Golgi, por medio de la interacción directa de alta afinidad con los aminoácidos de su estructura, lo que evita su localización en la membrana celular.

Otros virus usan estrategias parecidas. El virus del ébola secuestra la teterina en compartimientos intracelulares mediante la producción de una glucoproteína de alta afinidad por la teterina; sin embargo, en forma alternativa se propuso que la glucoproteína puede promover el ensamblaje de nuevos viriones en sitios donde la teterina no puede ejercer su función. Se observó que la proteína K5 del herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi, de manera homóloga a la proteína Vpu de los lentivirus, posee la capacidad de secuestrar la teterina de las membranas y promover su degradación en los lisosomas o en los proteosomas. Asimismo, la lisis de la célula infectada inducida por varias familias de virus puede representar un mecanismo para evadir la acción de la teterina.

Viroplasmas

Recientemente, se descubrió la formación de estructuras membranales que contienen grandes cantidades de virus al interior de las células. La observación de dichas estructuras se asoció con un incremento en la replicación viral, por lo que fueron llamadas *fábricas virales* o viroplasmas. Diferentes estudios han descrito la formación de viroplasmas, en particular asociados a la iniciación y progresión de la replicación de RNA viral de las familias de arterivirus, flavivirus, coronavirus, picornavirus, alfavirus, nodavirus y reovirus. La formación de dichas estructuras demanda rearreglos en el citoesqueleto y el reclutamiento de membranas de varios organelos celulares, aunque se cree que provienen principalmente de membranas del retículo endoplásmico promovidas por la traducción de las proteínas virales, de la iniciación de procesos de autofagia como respuesta celular contra patógenos intracelulares, o bien del inicio de la respuesta celular ante el plegamiento incorrecto de proteínas. En la actualidad se dilucida el desempeño de las proteínas virales asociadas a la formación de estas estructuras. Los procesos de síntesis de lípidos promovidos por el virus de la hepatitis C y los virus Coxsackie desempeñan un papel muy importante en el proceso de formación de

Recuadro 24-2. Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)

El virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) es causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida). Se cree que, en la actualidad, cerca de 36 millones de personas se encuentran infectadas por el virus y que cada día se presentan de 80 a 85 mil casos nuevos. El virus fue originalmente identificado y aislado en el Instituto Pasteur de Francia en 1983, a partir de muestras de pacientes homosexuales que presentaban graves infecciones por patógenos oportunistas, como *Candida albicans*, *Pneumocystis jiroveci* y citomegalovirus. La confirmación del hallazgo de un nuevo virus se llevó a cabo en un laboratorio en Estados Unidos, donde se descubrió el tropismo específico que posee para infectar linfocitos Th, lo que causa inmunodeficiencias. Por ello, se le denominó virus de la inmunodeficiencia humana.

El virus puede aislarse a partir de muestras de fluidos corporales de los pacientes; por ejemplo, saliva, sangre, semen, fluidos vaginales, lágrimas, líquido amniótico o leche materna. Al ser expuesto a concentraciones mínimas de oxígeno, su viabilidad se ve comprometida de forma drástica. Los estudios epidemiológicos han demostrado que los principales factores de riesgo para adquirir la infección son las relaciones sexuales sin protección, pues el coito promueve el contacto de los fluidos de una persona infectada con los de una sana, la drogadicción (debido al uso de agujas contaminadas), la realización de *piercings* y tatuajes, y la vía perinatal (en la que los fluidos de la madre infectada entran en contacto con el recién nacido).

Estructura y replicación viral

El HIV se categoriza en el género de los lentivirus por la velocidad en la que se replica. Pertenece a la familia de los retrovirus. La partícula viral, también denominada virión, contiene un genoma constituido por una cadena de RNA de cadena sencilla. Codifica con las proteínas virales necesarias para la replicación viral, envuelta en una membrana interior celular en forma de cono truncado. El virión posee un diámetro de 80 a 100 nm y lo rodea una envoltura membranal de composición bilipídica que proviene de la célula infectada, a partir de la cual sobresalen las glucoproteínas virales gp120 y gp41, mismas que están involucradas en la unión del virus con las células del hospedero. Al interior del virión se localiza la nucleocápside, que tiene forma icosaédrica y rodea y protege el genoma viral. De acuerdo con su composición genética y su variabilidad antigénica, se clasifican dos subtipos diferentes de HIV denominados HIV-1 y HIV-2. El subtipo HIV-1 es el más virulento y se le considera el causante de la pandemia mundial. Por otra parte, se describió que el subtipo HIV-2 induce una enfermedad menos agresiva, ya que la evolución es más lenta, la transmisión de madre a hijo es menos frecuente y parece ser endémico de zonas de África Oriental. Ambos subtipos virales codifican para las mismas proteínas estructurales, con excepción de las proteínas vpu y vpx; la primera presente en el subtipo 1 y la segunda en el subtipo 2.

Las proteínas responsables de la replicación viral se encuentran codificadas por los genes *gag*, *pol* y *env*. El gen *gag*, asociado al RNA durante la gemación de los virus de la célula infectada, da lugar a cuatro proteínas adicionales mediante proteólisis: las proteínas p6, p7, p17 y p24. Las proteínas p6 y p7 dan origen a la nucleocápside responsable de la incorporación del RNA a los nuevos viriones. La proteína p17 (una proteína accesoria cariofílica [afín al núcleo]) permite el transporte del DNA viral (transcrito a partir del RNA viral) al núcleo de células diferenciadas de modo específico. La proteína p24 da origen a la cápside durante las etapas finales de la gemación viral.

El gen *pol* da lugar, a su vez, a cuatro proteínas: p10, p15, p31 y p50. La aspartil-proteasa, denominada p10, da origen a las proteínas del gen *gag* y, mediante autoproteólisis, a las proteínas del gen *pol*. La RNAasa, llamada p15, se encarga de la separación de los heterodímeros de RNA-DNA viral durante la transcripción inversa. La proteína p31 incorpora el DNA viral al núcleo de la célula infectada por medio de tres diferentes actividades: una actividad de exonucleasa, que corta los extremos del DNA viral; una actividad de endonucleasa, que corta el DNA del huésped (de preferencia en sitios de alta actividad transcripcional), y una actividad de ligasa, que une el genoma viral con el del huésped. La p50 es la cuarta proteína codificada por el gen *pol*. Tiene actividad de transcriptasa inversa y una función dual, pues depende de RNA y DNA. En una primera etapa, su función es promover la síntesis de la primera cadena de DNA viral a partir del RNA viral; dicha cadena será utilizada como molde para la síntesis de la segunda cadena de DNA.

Una vez que los nuevos viriones son sintetizados, geman en sitios adyacentes a la membrana celular y allí adquieren su envoltura. En esta etapa, el gen *env* viral promueve la transcripción de 72 espículas proteínicas, compuestas por las proteínas virales gp41 y gp120 arregladas en forma de trímero. Tales estructuras resultan esenciales para la invasión viral a las células del huésped. Cuando el virus infecta las células hospederas comienza a replicarse en su interior; en este paso, las proteínas reguladoras y accesorias virales tat, rev, vif y vpu intervienen de manera activa al determinar la evolución crónica o aguda de la enfermedad.

La proteína tat tiene dos formas: la primera es corta, de 72 aminoácidos, se expresa en etapas tempranas de la infección y actúa como transactivador para la transcripción del RNA viral; la segunda forma es larga, 101 aminoácidos, se expresa en etapas tardías de la infección y promueve la transcripción del resto de la cadena viral.

La proteína rev regula y promueve el transporte del mRNA vírico hacia el citoplasma celular para que sea traducido. La proteína vif, de 193 aminoácidos, normalmente se encuentra en niveles bajos al interior de los viriones e interacciona con el RNA viral al estimular el ensamblaje y la maduración de nuevos viriones. Se debe hacer enfásis en que se sabe que vif es capaz de inhibir la acción de la proteína celular antiviral ApoBEC3G, pues la secuestra al interior de los nuevos viriones, lo que a su vez origina niveles muy altos de mutaciones en el genoma viral.

Por su parte, la proteína vpu, de 81 aminoácidos, se acumula en el aparato de Golgi y en los endosomas de la célula hospedera y presenta dos funciones principales en la infección. En conjunción con otra proteína viral accesoria, denominada Nef, la vpu es responsable de la reducción en la expresión de las moléculas de CD4 de la superficie celular y de las moléculas del MHC-I. Dicha acción se lleva a cabo mediante la interacción de dichas moléculas con las proteínas celulares CD4 y b-TrCP, lo cual induce la ubiquitinación de CD4 y MHC-I y su subsiguiente degradación en el proteasoma, a la vez que promueve la sobreexpresión de la proteína viral gp120 en las membranas celulares. Además, se encontró que el desprendimiento de viriones de la membrana celular es dependiente de la actividad de vpu por medio de la unión, y posterior inhibición, de la proteína antiviral teterina. Hasta el momento, se acepta que la función conjunta de las proteínas vpu y nef es esencial para que la infección por HIV progrese hacia el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Otro factor determinante de la patogenia y de la enfermedad causada por el virus es el tropismo específico que presenta por células de origen mieloide, en particular los linfocitos Th. Por esta capacidad, se reconocen hasta el momento dos subtipos virales: los M-trópicos y los T- trópicos. En los estados iniciales de la infección, los virus M-trópicos se unen a la molécula CD4 y al receptor membranal CCR5, presente en varias células de origen monocítico (como las células dendríticas y los monocitos). La infección del virus a las células dendríticas resulta un paso muy importante en la patogenia de la enfermedad, ya que las células dendríticas infectadas constituyen el principal mecanismo por el cual los linfocitos Th se infectan mediante transmisión intracelular. Dichas células constituyen el principal reservorio del virus, que le permiten pasar desapercibido por el sistema inmunológico, y que la infección se establezca de manera crónica. Hace poco, se observó que las mutaciones en el gen viral *env* de la gp120 viral promueven el cambio de tropismo M-trópico hacia T-trópico; la proteína gp120 mutante es capaz de unirse a las moléculas de CD4 y al receptor para quimiocinas CXCR4. Este cambio se ha asociado con más frecuencia a etapas tardías de la enfermedad y se ha correlacionado con la progresión de la misma hacia etapas más avanzadas.

Historia natural de la infección con HIV

Desde la perspectiva clínica, la infección con HIV se divide en distintas etapas, determinadas por el conjunto de síntomas clínicos que presentan los pacientes en respuesta a la infección. La progresión de las etapas está directamente relacionada con la respuesta inmunológica del hospedero frente a la infección. Hasta el momento, se establecieron tres etapas principales: una fase aguda, una fase crónica y, por último, el sida.

La fase aguda comienza en el momento de la infección con el virus, cuando éste se propaga con rapidez por el cuerpo de la persona infectada y el HIV se multiplica al interior de las células del huésped hasta alcanzar niveles elevados de partículas virales. Es importante hacer notar que, durante esta fase, un alto porcentaje de las personas infectadas son asintomáticas y sólo presentan síntomas clínicos asociados

Recuadro 24-2. Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (*continuación*)

a otras infecciones virales; por ejemplo, gripe, fiebre, diarrea, malestar corporal, sudoración nocturna y vómito. Por ello, la mayoría de los pacientes no recibe tratamiento específico. En esta etapa la infección del virus a los linfocitos Th es máxima y éstos se incrementan en la sangre de los pacientes.

La fase crónica de la infección se caracteriza por los altos niveles de replicación viral en el hospedero; sin embargo, hay ausencia de síntomas, por lo que también se le ha denominado etapa de latencia clínica. En este periodo, el sistema inmunológico es capaz de restituir los niveles normales de linfocitos afectados por la enfermedad, así que los síntomas no son evidentes. La fase crónica puede prolongarse por años, en el trascurso de los cuales el paciente no recibe tratamiento alguno. La constante infección de los linfocitos Th (debida a la creciente tasa de replicación e infección viral) comienza a afectar al hospedero, quien ya no es capaz de restituir los niveles de linfocitos Th a los niveles normales. Se calcula que el paciente puede desarrollar el síndrome de inmunodeficiencia adquirida en un plazo de 5 a 10 años. Al término de la fase crónica, el hospedero comienza a mostrar los síntomas asociados al SIDA, entre los que se encuentran dermatitis, úlceras bucales y foliculitis.

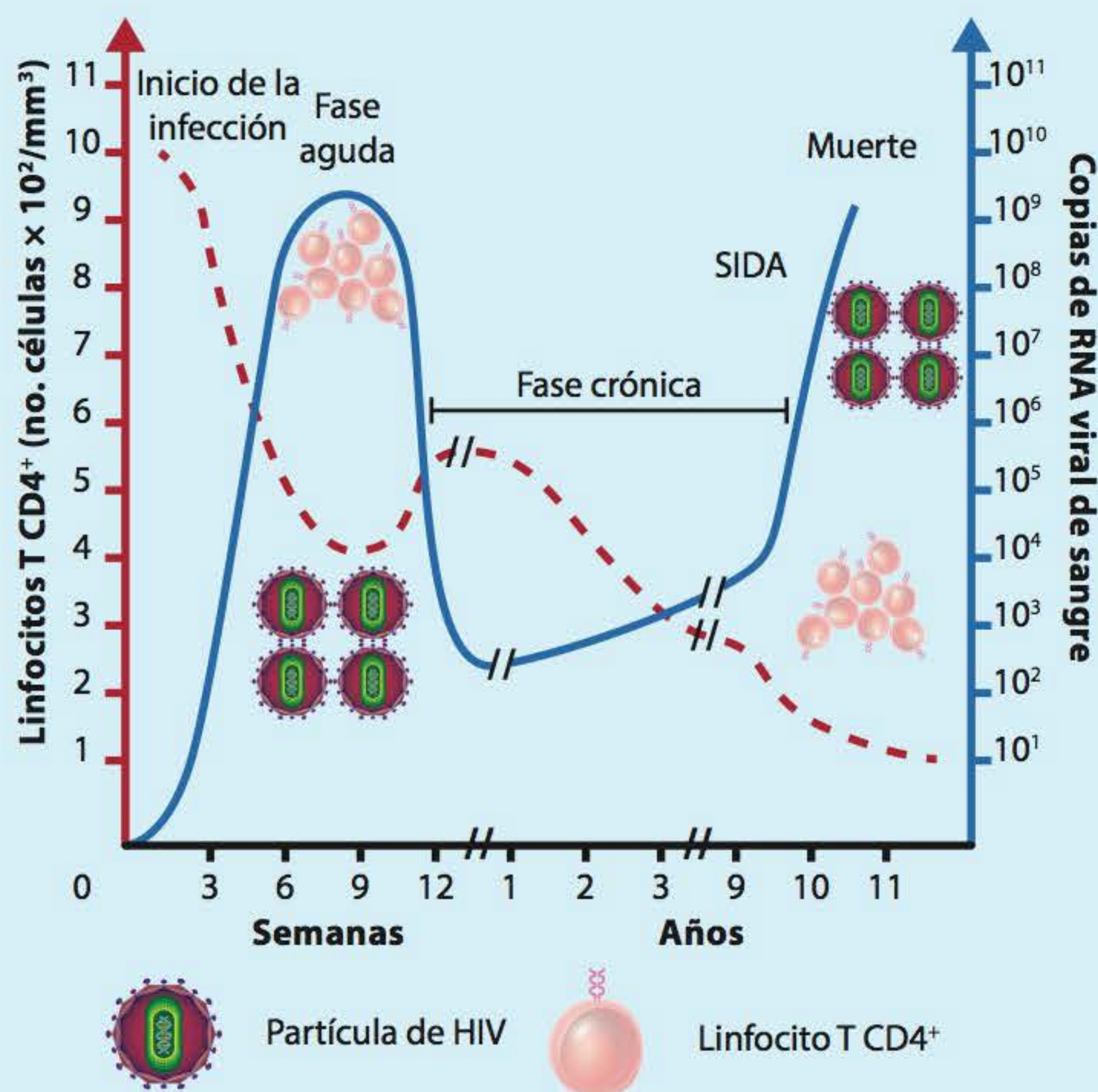


Figura 24-2-1. Progresión de la infección por HIV
Progresión de la infección por HIV, en rojo (eje de las Y a la izquierda) se muestra el número de linfocitos T CD4⁺ circulantes en sangre durante la enfermedad, como lo demuestra la línea punteada del mismo color conforme la enfermedad progresa el número de dichas células disminuye de manera significativa a lo largo de los años. Por otra parte en el eje de las Y a la derecha en azul se muestra el número de copias de RNA viral en sangre y su progresión a lo largo de la enfermedad se muestra en la línea discontinua del mismo color, la cual muestra que durante la fase aguda se incrementa el número de RNA virales en sangre, posteriormente dicha cantidad disminuye durante la fase crónica y finalmente cuando los síntomas del SIDA aparecen el número de genomas de RNA virales incrementa nuevamente.

La última etapa de la enfermedad se caracteriza por la capacidad disminuida del sistema inmunológico del hospedero para contender contra infecciones de cualquier tipo, por lo que de manera constante se presentan síntomas de neumonía, tuberculosis y candidiasis, así como los de infecciones producidas por otras bacterias oportunistas. En un alto porcentaje de los casos, esto provoca la muerte del paciente.

viroplasmas. Asimismo, se observó que la sobreexpresión en las células de las proteínas 3A y 2BC, las proteínas NSP3 de los arterivirus, las NSP4 de los coronavirus y el complejo NSP2–NSP5 de los rotavirus puede generar viroplasmas funcionales o estructuras similares a éstos.

En los virus con genoma de DNA no se ha observado la formación de viroplasmas, aunque se describió la formación de estructuras parecidas. Tales estructuras, denominadas agregasomas, carecen de membranas. Los agregasomas son inclusiones celulares de localización pericentriolar que se organizan alrededor del centro organizador de microtúbulos en respuesta a la agregación de proteínas.

Los agregasomas y los viroplasmas comparten algunas características, entre las que se encuentran la inclusión de mitocondrias y chaperonas celulares, y el confinamiento al interior de filamentos de

vimentina reorganizados. Se ha propuesto que, de forma homóloga a lo observado con los viroplasmas, los DNA virales se organizan en estas estructuras después de entrar a la célula, pues se forma un complejo entre su genoma y la proteína celular dineína que promueve la formación de estructuras similares a las de agregados proteínicos. La formación de viroplasmas o agregasomas, según sea el tipo de virus, puede resultar beneficiosa para la replicación, ya que es posible que confiera resistencia ante los mecanismos de reconocimiento intracelulares. La formación de agregasomas no evita la formación de viroplasmas; ambos se pueden observar al mismo tiempo, aunque en localizaciones independientes, cuando una célula es coinfectada con virus de RNA y DNA.

Modulación viral de la respuesta inmunológica

Células dendríticas

Durante las infecciones virales, el daño ocasionado al hospedero puede ser un efecto colateral de la activación del sistema inmunológico. Dado que las células dendríticas tienen una función fundamental en la diferenciación del fenotipo de los linfocitos Th, pueden favorecer que aumente la gravedad de una enfermedad viral. Ciertos virus aseguran su persistencia induciendo la producción de citocinas que suprimen la respuesta celular tipo Th1; algunos ejemplos de este mecanismo incluyen la interacción del HIV con la molécula DC-SIGN, que está asociada a la inducción de una respuesta de tipo Th2. Ésta favorece la persistencia de la infección; el RSV tiene la capacidad de inhibir la producción de interferón y de IL-12p70, y el CMV codifica proteínas con actividad antiinflamatoria, como la IL-10. Otros virus afectan distintos estadios y eventos de la maduración de las células dendríticas: el HCV inhibe la expresión de las moléculas MHC-II, en especial el HLA-DR; el virus del sarampión y el RSV desestabilizan la interacción entre las células dendríticas y los linfocitos T; el HSV disminuye la expresión de moléculas de coestimulación en las células dendríticas; la proteína no estructural 1 (NS1) del virus de la influenza bloquea el proceso de maduración de las células dendríticas, mientras que el virus *vaccinia* induce su maduración, pero interfiere con la presentación antigénica.

Varios trabajos reportan que la cantidad de células dendríticas repercute en el curso de una infección viral. Así, la gravedad de la infección por el HSV es inversamente proporcional a la frecuencia de pDC en circulación: se observó que los pacientes con necrosis retinal aguda por el HSV tienen bajas cantidades de pDC en circulación. De la misma forma, la baja frecuencia de pDC en individuos con infección primaria por el HIV está asociada a una alta carga viral en el plasma. Las frecuencias bajas de esta población pueden estar determinadas genéticamente en el hospedero o ser resultado de la presencia de partículas virales; por ejemplo, el HCV que induce apoptosis en las pDC o el HIV que favorece la acumulación de las pDC en los órganos linfoides a consecuencia de la alta replicación viral de los mismos. Ciertos virus, como los lentivirus, permiten que las células dendríticas los capturen, migren y los transporten a los órganos linfoides; allí los lentivirus encuentran su célula blanco de infección. A su vez, los virus que no tienen tropismo por células linfoides, como el HCV, aprovechan las funciones de las células dendríticas para diseminarse y llegar a su célula blanco.

Linfocitos T

En infecciones como la del RSV, los linfocitos T no sólo participan en la eliminación del microorganismo, sino también en la patología de la enfermedad. Por ejemplo, el infiltrado de linfocitos Th2 contribuye al reclutamiento de eosinófilos y favorece la inflamación en el pulmón; durante la infección aguda por el HSV los linfocitos Th son cruciales para el control de la infección; los macrófagos, los linfocitos Tγδ y los linfocitos Tc controlan la diseminación del virus hacia el sistema nervioso (en particular, los linfocitos Tc mantienen al HSV en un estado latente en las neuronas sensoriales mediante mecanismos no citolíticos), y en infecciones por el HBV, los linfocitos Tc están implicados de igual forma en los mecanismos de eliminación del virus y en el daño hepático.

Se sugiere que los linfocitos Treg naturales, que se caracterizan por ser $CD4^+CD25^+Foxp3^+$, participan en el transcurso de las infecciones de naturaleza viral y afectan tanto la intensidad de la respuesta inmunológica como el resultado de la infección. Experimentos en ratones a los que se eliminó la población de linfocitos Treg naturales antes de infectarlos por el HSV, reportaron una respuesta inmunológica más intensa respecto a la cantidad de linfocitos Th, lo mismo que una mayor capacidad proliferativa y citotóxica de los linfocitos Tc, y el aumento en los niveles de anticuerpos en los sitios de infección; en este mismo sentido, se detectaron células de memoria más eficientes. Algunas investigaciones se han enfocado en la influencia que pueden tener los linfocitos Treg naturales durante la infección crónica por el HCV; los resultados indican que los linfocitos Treg

naturales pueden favorecer la persistencia viral por la regulación de los linfocitos T efectores mediante la secreción de IL-10 que, según se sabe, es capaz de modular la actividad protectora del IFN-γ producido por los linfocitos Th, lo que correlaciona con el desarrollo de infecciones persistentes.

Inducción e inhibición de apoptosis en células infectadas por virus

La apoptosis es un proceso controlado a nivel genético que está involucrado en la regulación de la homeostasis, el desarrollo tisular y las actividades del sistema inmunológico, ya que permite la eliminación de las células cuya función y tiempo de vida media se han cumplido, de las que tienen daños en su genoma o que han sido infectadas por microorganismos, como los virus. La apoptosis se caracteriza por la condensación de la cromatina, fragmentación del DNA, contracción celular y formación de cuerpos apoptóticos.

En el contexto evolutivo, los virus han desarrollo una serie de herramientas que les permite hacer frente a las diversas respuestas antivirales del hospedero. Durante apoptosis, los componentes celulares y los viriones son contenidos en cuerpos apoptóticos, los cuales son fagocitados por las células circundantes con capacidad fagocítica. Este hecho limita intensamente la respuesta inflamatoria y favorece la diseminación de la infección sin que las partículas virales sean detectadas por los componentes celulares y humorales (anticuerpos y enzimas hidrolíticas). Varios ejemplos evidentes de lo anterior se presentan durante la infección por adenovirus, que puede favorecer la apoptosis por medio de la inducción de p53, por la activación de PP2A o al incrementar la sensibilidad al TNF. Así, la proteína E7 de los papilomavirus induce la expresión de p53, mientras que la proteína E2 suprime la expresión de la E6 durante la infección. La proteína NS1 del parvovirus B19 ocasiona el rompimiento de las hebras de DNA e induce el arresto del ciclo celular en la fase G. Los herpesvirus 6 y 7 inducen la expresión del TNFR1 tanto en las células infectadas como en las células vecinas. El EBV, mediante la proteína EBNA3C que se une a la proteína Rb, promueve la progresión del ciclo celular. El HBV induce la expresión de p53 a través de la MEKK y el *c-myc* e induce la sensibilidad al TNF. El HIV incrementa el estado oxidativo de las células infectadas, aumenta los niveles de Ca^{2+} intracelular, forma agregados por medio de la glucoproteína 160 (Gp160), interacciona con el receptor CXCR4 en neuronas mediante la Gp120/gp41 e induce el arresto del ciclo celular por la presencia de Vpr. El *core* proteínico del HCV se une al dominio intracitoplasmático del TNFR1 e inhibe la activación de NF-κB. El RSV favorece la inducción de interferón y de caspasa-1. Los virus de la influenza A y B inducen la expresión de Fas.

En contrapartida, algunos virus tienen la capacidad de inhibir la apoptosis. Por ejemplo, los virus *vaccinia*, influenza y HSV-1 inhiben la respuesta a interferón mediante el bloqueo de PKR o de la RNAasa L. Los myxomavirus inhiben la respuesta de la Fas y del TNF. El HPV, el HBV y los adenovirus inducen la degradación de p53 por el proteasoma. El citomegalovirus secuestra p53. El HCV y el HTLV-1 bloquean la transcripción de p53 en el citoplasma. El EBV y el HIV inducen la expresión de los miembros de la familia de Bcl-2. Los adenovirus y el EBV actúan como homólogos de Bcl-2. Los virus *vaccinia* y los myxomavirus favorecen la producción de inhibidores de caspasas. Por último, el HSV induce un efecto antioxidante en las células (Tabla 24-1).

Vacunación

La efectividad de las vacunas en el transcurso de la historia es variable. Los grados de éxito han sido distintos, desde la desaparición oficial de casos de viruela en los años 70 del siglo pasado, hasta la incapacidad de la industria para desarrollar vacunas eficientes contra la epidemia de Ébola a principios de este siglo. Se cree que las primeras vacunas fueron ensayadas en Asia alrededor del año 200 a.C., donde se usaron virus completos con actividad reducida. De esta forma, se tomaban las pústulas o la pus de pacientes con signos leves de una enfermedad y se inoculaban en otras personas, con el fin de inducir una respuesta inmunológica. Ya en el siglo XVIII, Edward Jenner inició los experimentos modernos de vacunación al inducir inmunidad contra la viruela en humanos mediante cepas atenuadas de viruela de vacas. En el siglo XIX, los experimentos realizados por Luis Pasteur demostraron la efectividad del tratamiento con agentes patógenos atenuados para prevenir el desarrollo de una enfermedad. En ese entonces, se acuñaron los términos vacuna y vacunación, en honor a los experimentos realizados por Jenner con base en pústulas de vacas.

La investigación acerca de las vacunas ha permitido avances significativos en este campo. En la actualidad, gracias a estos avances se desarrollan vacunas contra diferentes cepas virales, por lo general con cepas atenuadas o inactivadas. Las vacunas atenuadas consisten en cepas de virus debilitadas, obtenidas a

Tabla 24-1. Virus y productos de genes virales que inducen apoptosis

Familia de virus	Virus	Proteína (gen)	Mecanismo
Adenoviridae	Adenovirus	EIA	• Induce sensibilidad a TNF
			• Induce la expresión de p53 y la estimulación del ciclo celular
		E4orf4	• Activa la PP2A e induce la apoptosis
		E3-11.6K	• Desconocido
Papovaviridae	SV40	Antígeno T grande	• Induce la expresión de p53 y la estimulación del ciclo celular
	Virus de polioma	Antígeno T grande	• Induce la expresión de p53 y la estimulación del ciclo celular
		Antígeno T mediano	• Induce la sensibilidad al TNF
	Virus del papiloma	E7	• Induce la expresión de p53 y la estimulación del ciclo celular
		E2	• Suprime la expresión del E6 durante la infección
Parvoviridae	MVM, B19	NSI	• Causa el rompimiento de las hebras de DNA
			• Induce el arresto del ciclo celular en G2
Circoviridae	CAV	VP3 Apoptin	• Desconocido.
Herpesviridae	HHV6/7	Desconocido	• Induce la expresión del TNFR1 en las células infectadas y aledañas
	EBV	EBNA3C	• Enlaza el Rb y promueve el ciclo celular
		EBNA1	• Se expresa en la ausencia de otras proteínas virales latentes. • Mecanismo desconocido
Baculovirus	AcNPV	IE-I	• Desconocido.
Hepadnaviridae	Virus de hepatitis B	HBx	• Induce la sensibilidad al TNF
			• Activa la MEKK, que a su vez induce la expresión de c-myc y p53
			• Mecanismo desconocido independiente de p53
Retroviridae	HIV-I	Tat	• Regulación por incremento del promotor del FasL
			• Aumenta el estado oxidativo de las células T infectadas
	HTLV-I	Tax	
		Gp160	• Forma agregados, aumenta el Ca^{++} intracelular
		Gp120/gp41	• Interactúa con el receptor de quimiocinas CXCR4 en las neuronas
		Vpr	• Induce la detención del ciclo celular en G2

(continúa)

Tabla 24-1. Virus y productos de genes virales que inducen apoptosis (*continuación*)

Familia de virus	Virus	Proteína (gen)	Mecanismo
Togoviridae	Semliki Forest virus	Región NS	• Desconocido
	Sindbis virus	E1, E2	• Regula NF-κB (en las neuronas)
Flaviviridae	Virus de hepatitis C	Proteína nuclear	• Enlaza el dominio citoplasmático del TNFR1m e inhibe la activación del NFκB
Floating genus: arterivirus	PRRSV	Producto del gen *Orf5*	• Desconocido
Paramyxoviridae	Virus Sendai	Proteína C	• Desconocido
		Leader region	• Puede implicar la inducción de interferón
	NDV	Desconocido	• Inducción de interferón y del TNF
	RSV	Desconocido	• Inducción del interferón y la caspasa-I
Orthomyxoviridae	Influenza A/B	Desconocido	• Regulación positiva de la expresión del Fas, que puede ser mediada por la PKR
Reoviridae	Reovirus	σ 1 (capsid)	• Desconocido
	Rotavirus	NSP4	• Pérdida de la permeabilidad de la membrana plasmática (necrosis)
Birnaviridae	IBDV	NS y VP2	• Desconocido

partir de una cepa silvestre infectiva mediante pasajes en cultivo repetitivos, o por medio de modificaciones genéticas en el laboratorio. El organismo resultante retiene la capacidad de replicarse y producir una respuesta inmunológica, pero no causa la enfermedad. La generación de vacunas atenuadas se basa en el hecho de que durante la replicación viral las polimerasas tienden a insertar errores de modo constante en los nuevos genomas, lo que resulta en la generación de progenies virales no infectivas que permiten su uso como agentes de vacunación. Hoy en día, se cuenta con vacunas de este tipo contra los virus de sarampión, parotiditis, rubéola, poliomielitis y fiebre amarilla, entre otros. Una de las principales desventajas de dicho método es la alta tasa de infecciones observada en pacientes con enfermedades crónicas que tienen una inmunosupresión, así como casos aislados en los que se reactiva o se induce la enfermedad.

Las vacunas inactivadas consisten en cepas virales crecidas en laboratorio que son inactivadas por métodos físicos y/o químicos, por lo que no pueden replicarse y, por lo tanto, no pueden producir la enfermedad en el hospedero. Tales vacunas son inoculadas de forma completa o sólo con fracciones del virus para inducir una respuesta inmunológica. La ventaja de este método es la eliminación de efectos adversos aun en personas inmunocomprometidas. Sin embargo, la respuesta inmunológica inducida suele ser incompleta, por lo que se requiere de varias inmunizaciones para incrementar su efectividad; además, las vacunaciones resultan ser inefectivas ante la aparición de nuevas cepas de virus, pues la respuesta protectora no es capaz de reconocer los antígenos modificados. En la actualidad, las vacunas inactivadas son parcialmente efectivas contra algunas cepas de influenza, poliomielitis, rabia y hepatitis A.

En los últimos tiempos, se desarrollan vacunas recombinantes; en éstas, las proteínas importantes para la replicación viral son expresadas mediante ingeniería genética en microorganismos no patógenos e inoculados en el paciente con el propósito de generar respuestas inmunológicas específicas. La ventaja de las vacunas recombinantes es que no se corre el riesgo de generar la enfermedad y es factible generar una respuesta inmunológica contra proteínas de expresión mediana y tardía del virus, al mismo tiempo que se eliminan los mecanismos del virus para inhibir dichas respuestas.

De manera homóloga, se intenta implementar vacunas de DNA, en las que el gen codificante para una o varias proteínas importantes para la replicación viral se insertan en seudoviriones o en partículas parecidas a viriones (VLP). Éstos son capaces de insertar el genoma en el hospedero y de generar una respuesta inmunológica específica al promover el reconocimiento de dichas proteínas, la presentación de antígeno y la generación de estados antivirales caracterizados por altos títulos de IFN-α y IFN-β

en los pacientes. Al mismo tiempo, son incapaces de replicarse y generar la enfermedad. Dicha estrategia se intenta en estos momentos para tratar de inhibir la función de las proteínas oncogénicas E6 y E7 del HPV, contra la gp120 del HIV, responsable de la invasión a linfocitos Th, así como *Nef* (gp160) y *Env*, entre otros genes. Sin embargo, la efectividad de las vacunas de DNA se ve reducida por la aparición espontánea de nuevas variantes virales que no son afectadas por la respuesta inmunológica generada, y por el montaje insuficiente de la respuesta inmunológica.

El desarrollo, la implementación y el incremento en la efectividad de las vacunas contra infecciones virales constituye uno de los ejes primordiales de la investigación en virología. Gracias al conocimiento acerca de aspectos fundamentales implicados en la replicación viral, a lo largo de los años se han combatido con éxito varias enfermedades con los más altos índices de mortandad en la historia. Hoy en día, el impulso de nuevas tecnologías que permitan una descripción aún más detallada de aspectos antes desconocidos en la interacción virus-hospedero, abre nuevas perspectivas para la mejora de los esquemas de tratamiento actuales, y también para el desarrollo e implementación de nuevas vacunas.

Resumen

Las infecciones virales son una de las mayores preocupaciones en materia de salud en el mundo. Debido a la gran tasa de mutación que poseen los virus, constantemente surgen nuevas cepas con capacidades diferentes de infección, lo que ocasiona que cada año se registren brotes infectivos y muertes asociadas a estos patógenos. A pesar de esto, es notable que el sistema inmune, en muchos casos, sea capaz de controlar e impedir de manera efectiva la infección y dispersión de los virus.

El estado actual del conocimiento acerca de la interacción entre las cepas virales y las células del sistema inmune resulta fundamental para entender en forma precisa los procesos que se dan detrás del establecimiento, la progresión o la resolución de la infección.

Por ello, es importante describir el reconocimiento de los virus por diversas células del sistema inmune; en particular, el papel de los neutrófilos, las células dendríticas, los macrófagos, las células NK y los linfocitos T CD4 y CD8. También conviene profundizar en los receptores extracelulares e intracelulares que se encuentran en dichas células e intervienen en el reconocimiento del DNA y RNA virales, lo mismo que en las vías de señalamiento implicadas en el montaje del estado antiviral caracterizado por la secreción y acción de los interferones.

Cabe hacer particular énfasis en las moléculas virales implicadas en la evasión del reconocimiento durante la entrada del virus a la célula blanco, en las moléculas virales que intervienen en la evasión del reconocimiento del DNA y RNA viral en el citoplasma, en el papel de la formación de viroplasmas para favorecer la replicación viral, en la inhibición o inducción de apoptosis, así como en las moléculas virales involucradas en inhibir la acción de la teterina.

En la actualidad, se han realizado avances significativos en el campo de la vacunación, gracias a los cuales se están desarrollando vacunas contra diferentes cepas virales, por lo general con cepas atenuadas o inactivadas, y se ensayan estrategias de vacunación para combatir las infecciones virales.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración de Sophia Montserrat Durón Gutiérrez, estudiante de la carrera de Químico Clínico Biólogo, de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Lecturas sugeridas

Belz G, Mount A, Masson F. Dendritic cells in viral infections. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2009;(188):51-77.

Boasso A. *Type I interferon at the interface of antiviral immunity and immune regulation: the curious case of HIV-1*. Scientifica. 2013;580968.

Lester SN, Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *Journal of Molecular Biology*. 2014;426(6) 1246-1264.

Rosendahl Huber S, van Beek J, de Jonge J, Luytjes W, van Baarle D. T cell responses to viral infections –opportunities for Peptide vaccination. *Frontiers in Immunology*. 2014;5:171.

Wilkins C, Gale M Jr. Recognition of viruses by cytoplasmic sensors. *Current Opinion in Immunology*. 2010;22(1):41-47.

Capítulo 25

Respuesta inmunológica frente a hongos

GLORIA M. GONZÁLEZ GONZÁLEZ • ROGELIO DE JESÚS TREVIÑO-RANGEL • ADRIÁN G. ROSAS TARACO

INTRODUCCIÓN

Contenido del capítulo

La primera característica fundamental de los hongos es la estructura de estos microorganismos, que puede ser tubular (denominada hifa) o una célula ovalada o redondeada independiente (llamada levadura). Las hifas se reproducen mediante la formación de estructuras denominadas conidias o esporas, mientras que la reproducción de las levaduras es por gemación. La blastoconidia resultante puede separarse de la célula madre o permanecer unida y producir ella misma otra blastoconidia. Bajo ciertas condiciones, el alargamiento continuo de la célula madre antes de la gemación resulta en una cadena de células alargadas llamadas seudohifas. Algunos de los hongos patógenos de los humanos cambian la forma en que crecen durante el proceso de invasión de tejidos. Estos patógenos, conocidos como dimórficos, suelen cambiar de una forma hifal multicelular en el ambiente natural (fase infectante) a una forma de una sola célula gemante en tejidos (fase parásita). Tales cambios morfológicos se deben a estímulos ambientales o del hospedero que facilitan la evasión de la respuesta inmunológica o la diseminación del hongo (Figura 25-1).

Además, los hongos son heterótrofos, lo que significa que no pueden sintetizar sus compuestos orgánicos; por lo tanto, obtienen sus nutrientes secretando enzimas para la digestión externa de diversos sustratos y absorbiendo los nutrientes que fueron degradados. Tienen una organización celular eucariota que está protegida por una pared celular rígida muy compleja, compuesta sobre todo de carbohidratos, como mananos, betaglucanos y quitina, entretejidos en una matriz de proteínas. Dicha estructura única confiere una fuerte protección contra toda clase de agresiones ambientales, incluido el ataque del sistema inmunológico.

Los hongos son los microorganismos menos estudiados, aunque se estima que hay 1.5 millones de especies fúngicas en el ambiente y que alrededor de 500 hongos están relacionados con enfermedades en los seres humanos. Lo anterior se debe, en parte, a la baja frecuencia de enfermedades invasivas en ausencia de factores de riesgo específicos, a pesar de la ubiquidad de la distribución de estos patógenos. Cabe mencionar que existe una alta probabilidad de que las personas inmunocompetentes padezcan a lo largo de su vida alguna infección fúngica en la piel o las mucosas; estas infecciones no provocan mortalidad y por lo regular la lesión se cura con agentes antifúngicos convencionales.

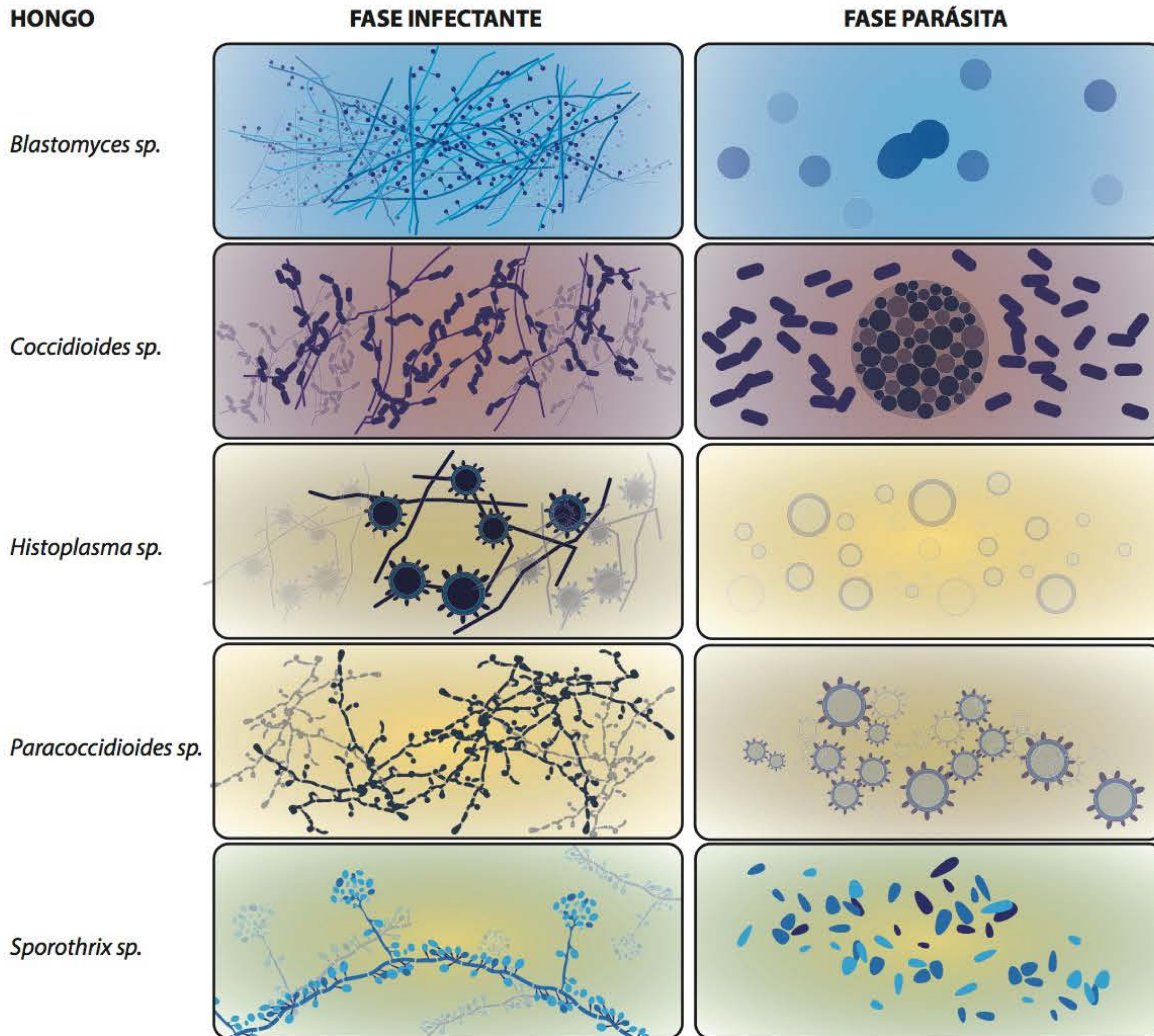


Figura 25-1. Cambios morfológicos de algunos hongos patógenos
Los patógenos fúngicos dimórficos son hongos capaces de alternar entre dos distintas formas o fases con base en estímulos ambientales y del hospedero. La fase micelial del hongo resulta ser la forma infectante del mismo, y una vez dentro del hospedero da lugar a la fase parásita.

Entre las infecciones fúngicas más comunes están las superficiales, causadas sobre todo por dermatofitos, que afectan alrededor de 25% de la población mundial. Las infecciones superficiales de la mucosa genital provocadas por *Candida* sp. también son muy comunes. Para el caso de las vulvovaginitis se estima que cerca de 50 a 70% de las mujeres en edad reproductiva sufren al menos un episodio de esta patología. Un escenario por completo diferente y preocupante es el de aquellos individuos que presentan alteraciones en el sistema inmunológico o presentan una ruptura de las barreras físicas; estas condiciones los hacen susceptibles a infecciones fúngicas invasivas, que son difíciles de diagnosticar y tratar. Con frecuencia se asocian con altas tasas de mortalidad, de 30 a 50%, a pesar de la introducción de nuevas clases de antimicóticos. La incidencia de las infecciones fúngicas invasivas ha aumentado de modo sustancial en las últimas décadas debido a la pandemia de HIV/sida, a los modernos tratamientos inmunosupresores y a las intervenciones médicas invasivas. Estas últimas generan una situación paradójica, ya que algunos de los mayores factores de riesgo que predisponen a la adquisición de infecciones fúngicas invasivas son la admisión a unidades de cuidados intensivos, el trasplante de órganos, las cirugías extensas, el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro, la aplicación de quimioterapia y el uso de catéteres centrales endovenosos.

Muchas especies de hongos son responsables de infecciones que acaban con la vida de millones de

pacientes cada año; sin embargo, su contribución a la carga global de enfermedad se desconoce. Hace poco se reportó que más personas mueren cada año debido a infecciones fúngicas invasivas que a tuberculosis; el pronóstico para los pacientes con estas infecciones graves ha permanecido casi sin cambio en las últimas dos décadas. Más de 90% de las infecciones invasivas resultan de los siguientes hongos: *Cryptococcus* sp., *Candida* sp., *Aspergillus* sp. y *Pneumocystis jirovecii*. No obstante, los datos epidemiológicos de las infecciones fúngicas son notoriamente pobres debido al subdiagnóstico.

Activación de la respuesta inmunológica innata en la infección fúngica

Los hongos, a diferencia de los patógenos bacterianos o virales, poseen varias particularidades respecto a su interacción con las células del sistema inmunológico del hospedero. Por ejemplo, algunas especies fúngicas como *Coccidioides* sp., *Histoplasma* sp. y *Sporothrix* sp. son dimórficas, lo que las hace capaces de llevar a cabo una morfogénesis en respuesta a estímulos ambientales o propios del hospedero. Esto facilita la evasión inmunológica, diseminación y posterior ocupación del nicho biológico en el hospedero. Además, todos los hongos están protegidos por una pared celular: una malla flexible y muy compleja de polímeros de carbohidratos, entre éstos los mananos, betaglucanos y la quitina, entretejidos en una matriz de naturaleza proteica. La composición de la pared celular varía ampliamente según la especie. Por ejemplo, *Histoplasma capsulatum* expresa una forma única de alfa(1,3) glucano que protege su capa de betaglucano y facilita el proceso de invasión; por su parte, *Cryptococcus neoformans* presenta una gruesa capa de melanina que protege al hongo de agresiones externas. En general, la pared celular fúngica es una estructura única que confiere una fuerte protección contra todo tipo de estrés ambiental y es la principal fuente de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, por sus siglas en inglés), los cuales median la interacción hongo-hospedero durante el proceso de reconocimiento por parte de las células del sistema inmunológico.

Las células de la respuesta inmunológica de los mamíferos expresan receptores de reconocimiento de patrones (PRR, por sus siglas en inglés) que son capaces de detectar las diferentes estructuras moleculares que componen las paredes celulares fúngicas (Tabla 25-1). Los principales PRR involucrados en la identificación de los PAMP fúngicos incluyen la familia del receptor de lectinas tipo-C, como Dectina-1, Dectina-2, Mincle, SIGNR y el receptor de manosa; receptores *scavenger* (CD5 y CD36, entre otros); Galectina-3 y TLR. Este escenario dinámico se encuentra muy lejos de ser una simple interacción uno a uno entre cada PRR y su respectivo PAMP fúngico; de hecho, muchos PAMP (p. ej., los betaglucanos) pueden ser reconocidos por más de un receptor (Dectina-1 y TLR-2, entre otros); algunos PRR (como la Dectina-2) son capaces de reconocer más de un ligando, como es el caso de los alfaglucanos y mananos N-unidos. Además, diferentes células del hospedero poseen la capacidad de expresar diversas combinaciones de PRR, lo que confiere a cada tipo o linaje celular una habilidad única para identificar varias especies fúngicas.

Además, y para hacer más complejo aún el panorama, es importante recordar que muchos hongos pueden cambiar con rapidez entre diferentes morfotipos en respuesta a diversos estímulos en el hospedero, como los niveles de CO_2 o séricos. Un ejemplo característico es *Candida albicans* que puede identificarse al menos en cinco distintas formas que van de células levaduriformes blancas y opacas a seudohifa, hifa y clamidospora, cada una con sus peculiaridades clinicopatológicas. Este fenotipo dinámico complica la caracterización de la respuesta inmunológica del hospedero contra *C. albicans*, ya que dicho patógeno responde de modo continuo a su microambiente, enmascara de forma selectiva ciertos componentes de su pared celular y cambia cualitativamente los PAMP que expone en el hospedero.

Una vez que se lleva a cabo el acoplamiento de los PRR con sus ligandos en la pared celular fúngica, se activan varias vías de transducción de señales en las células del hospedero; éstas provocan la modulación transcripcional de gran número de genes inmunorreguladores que en última instancia dictan el tipo de respuesta inmunológica que se montará contra el hongo, la cual incluye respuestas proinflamatorias y antiinflamatorias, respuestas tipo Th1, Th2, Th17, Th22 y Treg, lo mismo que respuestas mediadas por anticuerpos. La manera en que las defensas del hospedero promueven la depuración del patógeno o contribuyen a la exacerbación de la enfermedad depende de numerosos factores interrelacionados que aún no han sido del todo elucidados.

El reconocimiento inmunológico de los hongos durante un proceso infeccioso tiene lugar debido a la interacción específica de PRR propios de células fagocíticas y PAMP. En seguida se enlistan los

Tabla 25-1. Principales PRR y sus ligandos afines en ciertos patógenos fúngicos

PRR	PAMP	Hongo
Dectina-1	Betaglucanos	*C. albicans* *A. fumigatus* *P. jirovecii*
Dectina-2	Alfamananos	*C. albicans* *P. brasiliensis* *H. capsulatum* *M. audouinii* *T. rubrum*
Mincle	Alfamanosa	*C. albicans* *Malassezia* sp. *F. pedrosoi*
TLR3	DNA, RNA no metilado	*C. albicans* *C. glabrata* *A. fumigatus*
TLR7	DNA, RNA no metilado	*C. albicans* *C. glabrata* *A. fumigatus*
TLR9	DNA, RNA no metilado	*C. albicans* *C. glabrata* *A. fumigatus*
TLR4	Mananos O-unidos	*C. albicans* *A. fumigatus* *C. neoformans*
TLR2 /TLR1	Fosfolipomananos	*C. albicans* *A. fumigatus* *P. brasiliensis*
TLR2 /TLR6	Fosfolipomananos	*C. albicans* *A. fumigatus* *P. brasiliensis*

principales PRR y sus ligandos afines en ciertos patógenos fúngicos.

Receptores tipo-Toll

Los receptores tipo-Toll se activan al unirse con mananos O-unidos, betaglucanos y ácidos nucleicos fúngicos. Se ha reportado que los receptores TLR-2, -3, -4, -6 y -9 están implicados en el reconocimiento de hongos de importancia clínica. La activación de TLR-2 y TLR-4 genera la síntesis y secreción de citocinas proinflamatorias y quimiocinas, entre éstas TNF-α, IL-1α, IL-1β, IL-6, MIP-2, MIP-1, G-CSF y GM-CSF. Mientras que las conidias de *A. fumigatus* activan macrófagos a través de TLR-2 y TLR-4, el desarrollo hifal de este hongo induce una pérdida selectiva de la respuesta proinflamatoria mediada por TLR-4, lo que afecta el equilibro Th1/Th2 y resulta en un estado ventajoso para el patógeno. Algunos reportes recientes indican que los polimorfismos en TLR-1 predisponen a candidemia, en tanto que los polimorfismos en TLR-4 predisponen a aspergilosis invasiva en pacientes con trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas.

Receptores de lectina tipo-C

Se ha reportado que los CLR (del inglés *C-Type Lectin Receptors*) (Dectina-1, Dectina-2, DC-SIGN, Mincle y el receptor de manosa) reconocen de manera

colectiva componentes de la pared celular fúngica (mananos N-unidos, alfa y betaglucanos y quitina, entre otros), mientras que la Galectina-3 ha mostrado la capacidad de reconocer betamanósidos. La Dectina-1 reconoce betaglucanos en las paredes celulares fúngicas y dispara respuestas inmunológicas con producción de citocinas pro y antiinflamatorias. Sin embargo, mientras la forma levaduriforme de *C. albicans* exhibe betaglucanos en su superficie, la forma hifal del hongo esconde su malla de betaglucanos debajo de un recubrimiento de manoproteínas; así el dimorfismo ayuda a *C. albicans* a escapar de la fagocitosis mediada por Dectina-1.

El inflamasoma en la infección fúngica

En modelos murinos de candidiasis se ha evidenciado la importante función que tiene la IL-1β en la defensa del hospedero. La producción y liberación de esta citocina requiere dos señales independientes: por una parte, la regulación de la transcripción y traducción de pro-IL-1β; y por otra, la inducción de su corte proteolítico, que libera la forma activa IL-1β. Los hongos inician la activación de ambos pasos para la síntesis de IL-1β a través de la activación de caspasas dependiente de CLR por medio del ensamble de inflamasomas con distintas subunidades de composición. El receptor NLRP3 o NOD-LRP3 (receptores tipo dominio de oligomerización nucleotídica) y la proteína adaptadora ASC conforman el andamio del inflamasoma NLRP3 para la activación de la caspasa-1. En humanos se asociaron variantes alélicas en NLRP3 con candidiasis vulvovaginal recurrente. Por otro lado, se estableció el papel protector que juega el inflamasoma NLRC4 en la candidiasis sistémica, cuya función más importante puede encontrarse en el compartimiento estromal. Sin embargo, también se han reportado mecanismos alternos de procesamiento de IL-1β.

Activación y polarización de linfocitos Th por antígenos fúngicos presentados por las células presentadoras de antígenos

La señal de activación de los linfocitos Th por hongos y levaduras proviene del reconocimiento de sus PAMP por los PRR expresados sobre la superficie de las células presentadoras de antígenos (APC). Una vez reconocido el patógeno se induce una serie de señales intracelulares que activan los factores de transcripción involucrados en la expresión de genes de citocinas en las APC. Las citocinas secretadas por las APC influyen sobre el perfil de secreción de citocinas de los linfocitos Th durante la presentación de antígenos. Los betaglucanos presentes en *C. albicans*, *P. jirovencii* y *A. fumigatus* desencadenan señales intracelulares a través de Dectina 1, en las que pueden presentarse dos escenarios:

a) Activación del inflamasoma NLRP3 que conduce a la producción de IL-1β; éste, a su vez, promueve el desarrollo de linfocitos Th17 e inmunidad antifúngica.
b) Activación del factor nuclear NF-κB que regula la producción de citocinas, como la IL-12, que promueven el desarrollo de linfocitos Th1 y la IL-6 e IL-23 involucradas en el desarrollo de linfocitos Th17.

Los alfamananos de *C. albicans*, *P. brasiliensis*, *H. capsulatum*, *C. neoformans*, *Microsporum audouinii* y *Trichophyton rubrum* interaccionan con la Dectina 2 para provocar la inducción de citocinas, como IL-6, IL-1β e IL-23; todas éstas favorecen el desarrollo de linfocitos Th17. El reconocimiento de residuos de manosa de *C. albicans*, *C. neoformans*, *Fonsecaea pedrosoi* y *P. jirovecii* por los PRR (p. ej., Mincle y el receptor de manosa) conduce a la polarización de linfocitos Th1 y Th17. Los TLR también participan en el reconocimiento de PAMP fúngicos, como TLR2 que reconoce fosfolipomanana de *C. albicans*, *A. fumigatus* y *P. brasiliensis* e induce, por un lado, la producción de TNF-α a través de la activación de NF-κB, o la inducción de linfocitos T reguladores (Treg) mediante la activación del factor de transcripción c-Fos. El TLR4 también reconoce manana de *C. albicans*, *C. neoformans* y *A. fumigatus*, lo que conduce al desarrollo de linfocitos Th1 (Tabla 25-2).

Citocinas producidas por linfocitos Th en el control antifúngico

Las citocinas proinflamatorias son importantes en el control de las infecciones causadas por hongos. La relevancia del TNF-α en la defensa contra hongos, como *C. albicans*, radica en la estimulación de la expresión de quimiocinas y moléculas de adhesión, de tal forma que promueve el reclutamiento de leucocitos polimorfonucleares e incrementa la fagocitosis, además de que activa los mecanismos microbicidas de los fagocitos al favorecer la eliminación del hongo

Tabla 25-2. Participación de la composición antigénica de varios hongos en la polarización de linfocitos T CD4+

Antígeno	Microorganismos	Polarización de T promovida
Betaglucanos	*C. albicans, P. jirovecii, A. fumigatus*	Th17
Alfamananos	*C. albicans, P. brasiliensis, H. capsulatum, C. neoformans, M. audouinii* y *T. rubrum*	Th17
Residuos de manosa	*C. albicans, C. neoformans, F. pedrosoi* y *P. jirovecii*	Th1 y Th17
Fosfolipomanana	*C. albicans, A. fumigatus* y *P. brasiliensis*	Treg
Manana	*C. albicans, C. neoformans* y *A. fumigatus*	Th1

invasor. Otra evidencia de la notable participación del TNF-α se observó cuando ratones *knock-out* para esta citocina murieron al ser infectados con *C. albicans*. El IFN-γ es una citocina secretada por los linfocitos Th1 que se ha asociado con la activación óptima de células fagocíticas; además, está asociada con la resistencia a candidiasis gástrica, anorrectal y sistémica aguda. Los pacientes infectados en forma recurrente con *Candida* sp. muestran una regulación negativa del IFN-γ, lo que demuestra el papel de dicha citocina en el control de la infección fúngica. En los últimos años se ha experimentado con la administración de IFN-γ en algunas infecciones micóticas y se observó que tiene un efecto sinérgico con la anfotericina B en contra de *C. neoformans*, mientras que en los casos de candidiasis participa en el control de la infección al incrementar la producción de ROS. En cuanto a modelos animales resistentes a *Coccidioides immitis,* éstos sobreexpresan IFN-γ.

Otra citocina asociada con una respuesta antifúngica es la IL-17A, cuya deficiencia conduce a un defecto en el reclutamiento de neutrófilos y fallas en el control de hongos patógenos. La IL-17A induce la secreción de quimiocinas que atraen a neutrófilos, G-CSF, péptidos antimicrobianos (como defensinas, mucinas y proteínas S100) y proteínas de la fase aguda (IL-6 y la proteína C reactiva, entre otras). Todas éstas contribuyen al control de patógenos fúngicos como *C. albicans* y *C. neoformans*. Por otro lado, la IL-17 provoca eosinofilia en los pulmones de ratones con exposiciones repetidas a las conidias de *A. fumigatus*, lo cual podría ser un hallazgo clave para desarrollar terapias en pacientes alérgicos a este hongo. La deficiencia de IL-22 se ha asociado con la susceptibilidad a candidiasis. La IL-22 induce la fosforilación de STAT3 en células epiteliales y, junto con la IL-17 y proteínas S100, controla la candidiasis. Las citocinas secretadas por linfocitos Th2 (como la IL-4, IL-5 e IL-6) promueven la activación y proliferación de linfocitos B; estos últimos se diferencian a células plasmáticas productoras de anticuerpos específicos contra los antígenos fúngicos. Según se mencionó antes, las citocinas producidas por los linfocitos Treg son la IL-10 y el TGF-β; ambas citocinas se denominan inmunorreguladores negativos de la respuesta inflamatoria (Tabla 25-3).

Tabla 25-3. Efectos de las citocinas sobre patógenos fúngicos

Linfocitos T CD4+	Citocina	Efecto	Patógeno
Th1	TNF-α	• Estimula la expresión de quimiocinas y moléculas de adhesión	*C. albicans*
	IFN-γ	• Activación óptima de células fagocíticas. • Favorece la respuesta Th1. • Incremento de mecanismos microbicidas.	*C. albicans* *C. neoformans* *C. immitis*
Th17	IL-17A	• Induce quimiocinas atractantes de neutrófilos, G-CSF, péptidos antimicrobianos como defensinas, mucinas y proteínas S100. • Incrementa la eosinofilia en el pulmón.	*C. albicans* *C. neoformans* *A. fumigatus*
	IL-22	• En conjunto con IL-17 y las proteínas S100 controla la infección fúngica.	*C. albicans*
Th2	IL-4, IL-5 e IL-6	• Favorecen la respuesta de anticuerpos.	*C. neoformans*

Participación de los linfocitos Tc en el control de las infecciones fúngicas

La participación de los linfocitos Tc ha sido menos estudiada en las infecciones fúngicas que la de los Th; a pesar de ello, existe evidencia de su activación por las APC que presentan antígenos fúngicos en el contexto molecular MHC I. En modelos animales de infección pulmonar por *P. brasiliensis* y *H. capsulatum* en ratones a los que se les eliminaron los linfocitos Tc, se determinó la importancia de dichas células en la eliminación de patógeno. En la infección por *C. neoformans*, la función principal atribuida a los linfocitos Tc es la lisis de las células fagocíticas infectadas con el hongo. Los linfocitos Tc se han asociado con la protección contra *Coccidioides* sp.; además, están relacionados con la inhibición del crecimiento de las hifas de *C. albicans*.

MECANISMOS FÚNGICOS DE EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA

Una vez que el hongo se ha establecido en el hospedero pone en marcha una serie de mecanismos de defensa que le permitirán evadir las agresiones del sistema inmunológico del hospedero, así como promover su persistencia en el mismo.

Regulación negativa de la respuesta inmunológica adquirida

El desarrollo de una respuesta de linfocitos Treg puede contribuir al control del proceso inflamatorio desencadenado por la interacción de los patógenos con los mediadores del sistema inmunológico. En la actualidad, se sabe que algunos patógenos de origen fúngico pueden romper el balance del proceso inmunorregulatorio e inducir un ambiente inmunosupresor que favorezca su persistencia en el hospedero a través de los linfocitos Treg y sus productos, como la IL-10 y el TGF-β. Tal es el caso de la candidiasis, en la que la expansión de linfocitos Treg promueve el incremento de la carga fúngica y bloquea la respuesta de linfocitos Th1 y Th2, que es significativa en el control del hongo. En los casos de paracoccidioidomicosis los linfocitos Treg también se asocian a la cronicidad.

Cryptococcus gattii puede regular en forma negativa la expresión de moléculas MHCII en células dendríticas así como su maduración, lo que conduce a una falla en la activación de linfocitos Th, sobre todo Th1 y Th17, además de que se regula negativamente la expresión de quimiocinas. En la infección por *S. schenckii*se observa una disminución de citocinas (IL-1, IL-17 e IL-18). Esta última está involucrada en la polarización de linfocitos Th1, por lo que la producción de citocinas y la respuesta celular mediada por estas células podría estar comprometida (Tabla 25-4).

Participación de los anticuerpos en las infecciones fúngicas

Los anticuerpos protegen al hospedero de procesos infecciosos mediante varios mecanismos complementarios, los cuales son multifactoriales y varían de modo considerable según las características del anticuerpo (concentración, especificidad, isotipo e idiotipo) y el patógeno en cuestión (intracelular o extracelular). El mecanismo más simple consiste en la interacción directa entre el anticuerpo y el patógeno, lo que causa su neutralización. Los factores adicionales que interaccionan con los anticuerpos incluyen

Tabla 25-4. Mecanismos de evasión de patógenos fúngicos a la respuesta inmunológica

Microorganismos	Mecanismo de evasión
C. albicans y *P. brasiliensis*	• Incremento de linfocitos Treg. • Favorece la persistencia y cronicidad del patógeno.
C. gattii	• Disminuye expresión de MHC-II. • Evita la maduración de células dendríticas. • Reduce la expresión de quimiocinas. • Disminuye la activación de linfocitos Th1 y Th17.
S. schenckii	• Regula las citocinas.

constituyentes del sistema inmunológico innato, como el complemento y los componentes celulares, en especial neutrófilos, monocitos y macrófagos. Por su parte, el mecanismo más complejo, y a la fecha el menos entendido, implica que se una la función de los anticuerpos a la inmunidad dependiente de linfocitos T. En este sentido, algunos estudios señalan que la transferencia de anticuerpos aumenta la sobrevida de ratones infectados sin impactar de modo considerable la carga del patógeno, lo que conlleva a la formación del granuloma e inflamación, de manera mucho más organizada en presencia de anticuerpos que en su ausencia. Las principales funciones reconocidas de los anticuerpos, en particular en las infecciones fúngicas, incluyen la prevención de la adherencia, neutralización de toxinas, opsonización y citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (ADCC). La ausencia de una firme asociación entre las deficiencias en anticuerpos y la susceptibilidad a infecciones fúngicas, lo mismo que la presencia de anticuerpos específicos en pacientes con infecciones fúngicas progresivas ha proporcionado evidencia en contra de un papel protector de los anticuerpos en este tipo de infecciones. Sin embargo, es importante aclarar que la evidencia de la contribución de los anticuerpos a las defensas del hospedero o en la infección fúngica naturalmente adquirida es casi inexistente.

Evasión de detección y fagocitosis

Evitar el reconocimiento inmunológico

El reconocimiento del beta(1,3) glucano presente en la pared celular de los hongos lo realiza el sistema inmunológico del hospedero a través del receptor Dectina-1, el cual activa múltiples vías de señalización intracelular que promueven la fagocitosis y la posterior destrucción de las células fúngicas por los macrófagos. *C. albicans* enmascara esta capa de betaglucano debajo de una cubierta de manoproteínas, la cual puede quedar expuesta con tratamiento antifúngico o mutaciones en las vías de señalización que regulan la producción de componentes de la pared celular, lo que conduce a un mayor reconocimiento de betaglucano por Dectina-1 y a la fagocitosis de macrófagos y neutrófilos. Las manoproteínas también son importantes mediadores de reconocimiento y captación por los fagocitos.

Otros hongos también ocultan sus betaglucanos como estrategia de defensa antifagocítica. Por ejemplo, el quimiotipo levaduriforme de *H. capsulatum* recubre sus beta(1,3) glucanos con una capa de alfa(1,3) glucanos, la cual resulta esencial para su virulencia. La fase levaduriforme de *Paracoccidioides brasiliensis* y *Blastomyces dermatitidis* también realiza este cambio.

Mecanismos antifagocíticos

Una vez detectados los patógenos por el sistema inmunológico del hospedero, el bloqueo de la fagocitosis es la estrategia potencial de supervivencia. En este sentido, el tamaño celular es un evasor efectivo a la ingestión: las formas multinucleadas de *C. albicans* y *A. fumigatus* no son internalizadas de modo eficiente. Por otra parte, la gran cápsula que posee *C. neoformans* es muy reconocida como un evasor de la fagocitosis, y en la actualidad incluso se ha descrito un tipo celular más grande, llamado células *gigantes* o *titánicas* (50-100 μm de diámetro). Sin embargo, el papel preciso de estas células gigantes en la patogénesis o persistencia de *C. neoformans* en el hospedero sigue sin esclarecerse. Algunos mecanismos adicionales, por ejemplo el GAT201 (factor transcripcional), median actividades antifagocíticas independientes de la cápsula en este patógeno.

Inhibición de la actividad del complemento

Otro mecanismo antifagocítico de *C. neoformans* es la secreción de App1, una pequeña proteína encontrada en el suero de pacientes infectados; la actividad es mediada a través de la interacción entre App1 con CR2 y CR3 para bloquear la fagocitosis. Por otra parte, *C. albicans* también inhibe la actividad del complemento por unión a varios factores regulatorios, entre éstos el factor H, FHL-1 y la proteína de unión a C4b (C4BP). Otros patógenos fúngicos también se unen a reguladores del complemento; por ejemplo, las conidias de *A. fumigatus* (no sus hifas) se unen al factor H, FHL-1 y las formas activas del plasminógeno.

Además de los inhibidores de la cascada del complemento, muchos hongos antropofílicos degradan directamente el complemento y proteínas de la matriz extracelular. La gran familia de las SAP (del inglés *Secreted Aspartic Protease*, o proteasas aspárticas secretadas) de *C. albicans* es un buen ejemplo de enzimas proteolíticas, pues degradan C3b, C4b y C5, entre otras proteínas.

Regulación negativa de la respuesta inmunológica

Inhibición de la producción de óxido nítrico

Ciertos hongos (como *C. albicans*, *C. neoformans*, *B. dermatitidis* y *Coccidioides posadasii*) pueden bloquear la producción NO en macrófagos bajo múltiples

RECUADRO 25-1. ASPERGILOSIS

La aspergilosis es un padecimiento cada vez más frecuente en el entorno clínico debido al incremento de la población inmunocomprometida. Los principales síndromes clínicos asociados con las infecciones causadas por *Aspergillus* sp. se encuentran resumidos en la siguiente tabla.

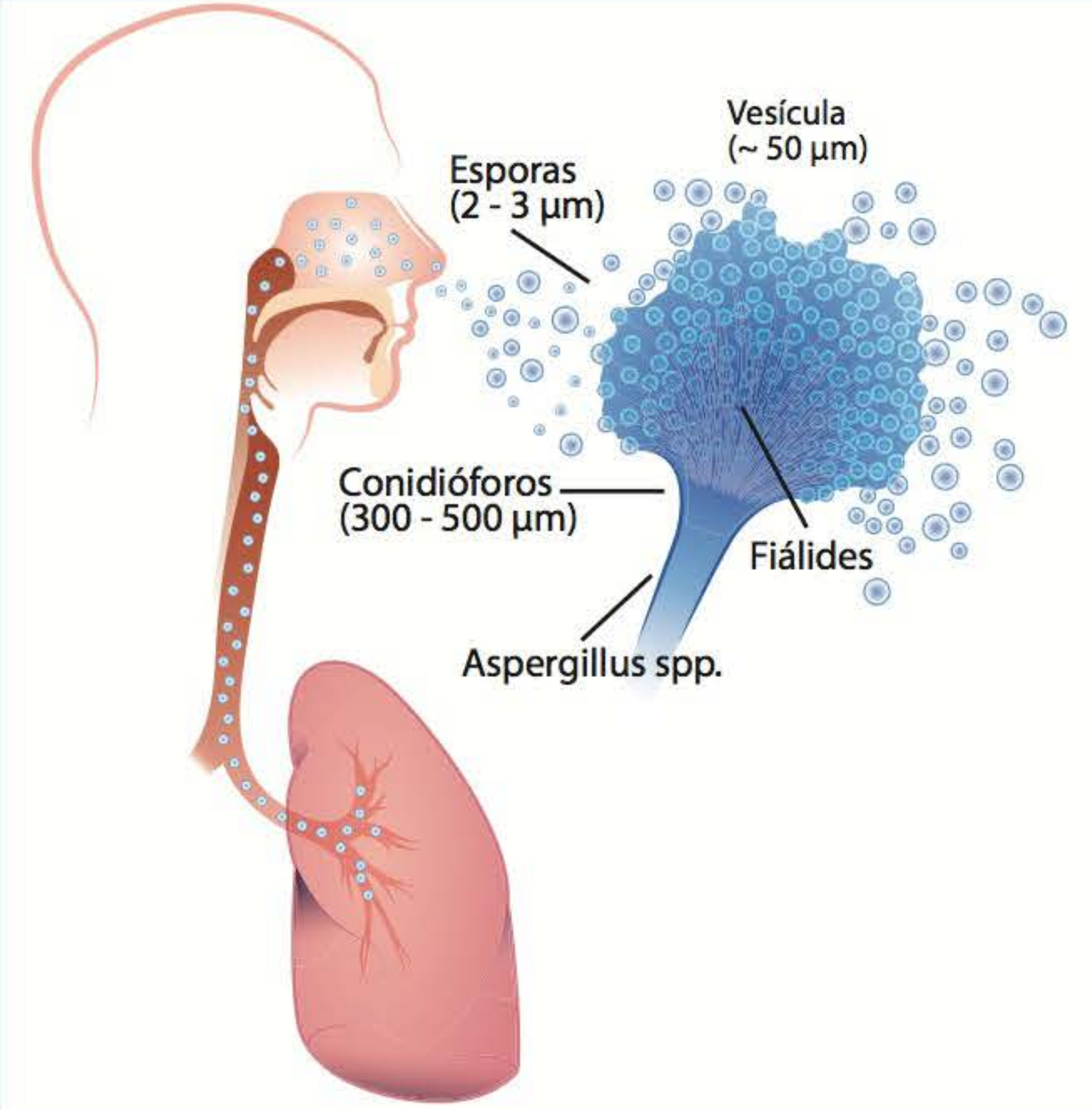


Figura 25-1-1. *Aspergillus* sp.
El género *Aspergillus* comprende un amplio grupo de hongos filamentosos ubicuos comúnmente aislados de suelo, restos vegetales y ambientes interiores, incluyendo hospitales. Estos hongos se adquieren principalmente por vía respiratoria a través de la inhalación de esporas en el aire y pueden llegar a causar infecciones fatales, especialmente en pacientes inmunocomprometidos.

Tabla 25-1-1. Infecciones causadas por *Aspergillus* sp.

Síndrome	Características clínicas
Aspergilosis alérgica	El hongo rara vez parasita las mucosas de las vías respiratorias, en las que se caracteriza por un estado de hipersensibilidad con aumento de la IgE. En casos de invasión bronquial se pueden elevar tanto la IgE como la IgG, lo que provoca un infiltrado pulmonar diseminado con eosinofilia (80%). Las especies que producen aspergilosis alérgica más a menudo son *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* y *A. nidulans*. Las pruebas inmunológicas son la determinación de IgE e IDR.
Aspergiloma	Es un síndrome clínico caracterizado por saprofitación pulmonar que produce bolas fúngicas o *fungusballs*, formadas por masas de micelio compacto entremezcladas con moco. La IgG tiende a elevarse, mientras que la IgE puede aumentar o no, y también hay eosinofilia ocasional en cuadros alérgicos. Las especies que forman aspergilomas con más frecuencia son *A. fumigatus*, *A. niger* y *A. flavus*. Las pruebas inmunológicas son galactomanano, ID, RIA y PCR.
Aspergilosis invasiva o diseminada	Por lo regular ocurre en individuos gravemente inmunosuprimidos; cursa con invasión del parénquima pulmonar (granulomas crónicos con hifas tabicadas), y puede diseminarse hacia diversos órganos. Las especies que suelen asociarse con aspergilosis invasiva son *A. fumigatus*, *A. niger* y *A. flavus*. Las pruebas inmunológicas son galactomanano, ID, RIA y PCR.

IDR = intradermorreacción, ID = inmunodifusión, RIA = radioinmunoensayo, PCR = reacción en cadena de la polimerasa.

mecanismos que todavía no han sido del todo descritos. Se sabe que *C. albicans* y *C. posadasii* secretan un factor aún no caracterizado, mientras que *C. neoformans* y *B. dermatitidis* requieren el contacto directo con macrófagos para bloquear dicho proceso. El bloqueo en la producción de NO en algunas especies (*C. albicans*, *C. neoformans* y *C. posadasii*) puede ser mediado a través de la regulación negativa de mRNA de iNOS en macrófagos, mientras que la actividad en *B. dermatitidis* puede ser la inhibición enzimática directa de iNOS.

Exosomas como bolsas de virulencia

Hace poco se describió la presencia de exosomas de unión a membrana en una amplia variedad de especies fúngicas, por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae*, *C. albicans*, *Candida parapsilosis* y *Sporothrix chenkii*. Estas vesículas fueron identificadas por primera vez en infecciones con *C. neoformans* en las que se demostró la presencia de polisacáridos capsulares; esto ofrece una valiosa respuesta a la gran interrogante de cómo este material se secreta y transita en la pared celular. Por otra parte, los exosomas de *H. capsulatum* contienen cerca de 200 proteínas diferentes, incluidas proteínas citoplasmáticas muy abundantes, enzimas que afectan la pared celular y la membrana, así como chaperonas y agentes antioxidantes. Vesículas que contienen carbohidratos alfa unidos se han aislado de *Paracoccidioides brasiliensis*, quizá mediando el cambio de betaglucanos a alfaglucanos que tiene lugar durante el cambio morfotípico de micelio a levadura del hongo.

Manipulación del tráfico intracelular

Un armamento adicional que utilizan los hongos para evadir la respuesta inmunológica del hospedero es la manipulación del tráfico intracelular o la modificación del microambiente del fagolisosoma. Estos eventos se han estudiado en patógenos particulares, como *H. capsulatum*, *C. neoformans* y *Candida* sp. El *H. capsulatum* ha mostrado que reside en fagolisosomas no acidificados por medio de la secreción de ciertos factores que alteran en específico el ambiente fagolisosomal. Uno de éstos es la Cbp1 (del inglés *Ca^{2+} binding protein*, o proteína de unión al calcio), la cual parece estar implicada en el debilitamiento o permeabilización de la membrana fagolisosomal. Por su parte, el *C. neoformans* también permeabiliza la membrana fagosomal y, eventualmente, provoca su expulsión de los macrófagos de una manera que no parece dañar la célula y que recibe el nombre de *vomocitosis*; la fosfolipasa B (Plb1) potencia este fenómeno.

La *C. albicans* y *Candida krusei* modifican de forma aberrante el tráfico intracelular, alteran el pH y, por ende, inhiben en forma parcial la acidificación del fagolisosoma. *Candida glabrata* también manipula el tráfico intracelular y suprime la función fagocítica, además de que inhibe la fusión fagosoma-lisosoma y comienza a replicarse en un compartimiento no acidificado. Esta replicación llega a destruir al macrófago mediante mecanismos no-apoptóticos.

SERODIAGNÓSTICO EN MICOLOGÍA CLÍNICA

El diagnóstico certero y oportuno de un proceso infeccioso por hongos resulta fundamental para el manejo terapéutico adecuado y, por ende, un pronóstico favorable en el paciente (Figura 25-2). Los métodos estándar para el diagnóstico de infecciones fúngicas incluyen cultivo convencional, análisis histopatológico, serología y, desde hace poco, metodologías basadas en el DNA. Por lo regular, el diagnóstico definitivo de una enfermedad fúngica se basa en el aislamiento del agente etiológico en cultivo y/o en la demostración microscópica del mismo en preparaciones histológicas o de otros especímenes clínicos. Sin embargo, es preciso señalar que el tiempo requerido para el crecimiento de los cultivos y su posterior identificación, así como los riesgos asociados en el paciente durante la adquisición de biopsias de tejido, no siempre permiten un diagnóstico temprano. En tal sentido, se han desarrollado diversos enfoques moleculares para la identificación específica y rápida de patógenos fúngicos, la mayoría basados en pruebas de PCR (del inglés *Polymerase Chain Reaction*, o reacción en cadena de la polimerasa), así como en métodos de hibridación de DNA. Pese a que estas metodologías poseen un gran potencial, muchas no están debidamente validadas y aún permanecen en fase experimental. Por otro lado, los métodos serológicos para la detección y cuantificación de anticuerpos y antígenos en suero, líquido cefalorraquídeo y otros fluidos corporales se han utilizado por muchos años para el diagnóstico de infecciones fúngicas, debido a la mínima invasividad en la adquisición del espécimen y a que, por lo general, son más rápidos que los métodos microbiológicos convencionales.

El abordaje farmacoterapéutico de las infecciones fúngicas en pacientes enfermos de gravedad suele

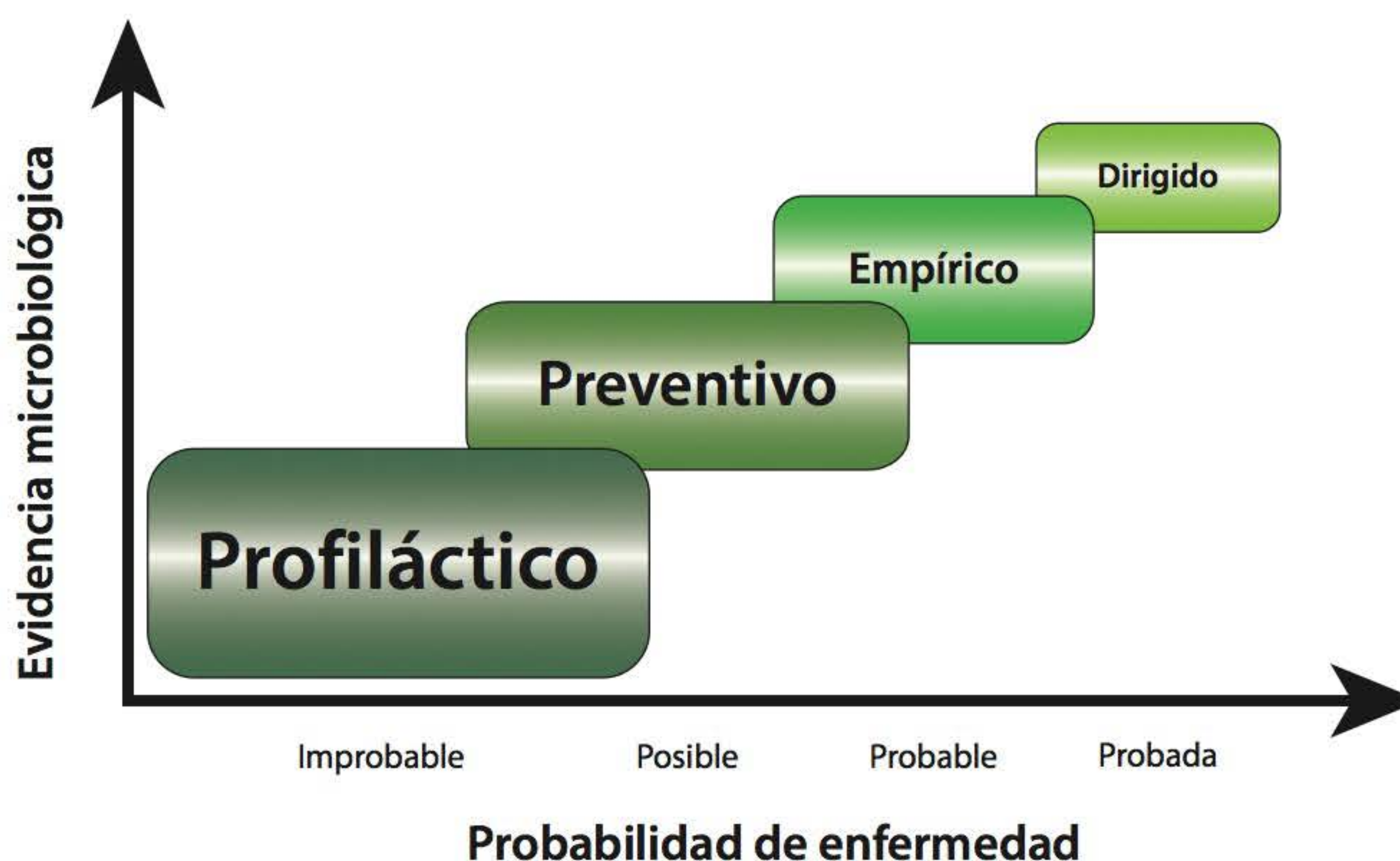


Figura 25-2. **Concepto de tratamientos antifúngicos en pacientes críticamente enfermos.**
El manejo farmacoterapéutico de toda infección fúngica diseminada debe ir de la mano del grado de severidad de la enfermedad en cada caso en particular y desde luego de la evidencia microbiológica aportada por el laboratorio, todo esto con la finalidad de instaurar tempranamente en el paciente terapias dirigidas contra el patógeno específico.

ser complejo, y debe estar basado tanto en la evidencia microbiológica del agente etiológico como en la probabilidad de enfermedad del individuo.

La detección de anticuerpos para el diagnóstico de estas infecciones, si bien resulta efectivo en algunas instancias, a menudo es difícil de interpretar, ya que los hongos son ubicuos en la naturaleza y la presencia de títulos de anticuerpos sugiere que una exposición previa es común. Además, la formación de anticuerpos puede suprimirse en pacientes muy inmunocomprometidos, lo que origina resultados falsos negativos. La detección de antígenos es un método de diagnóstico que puede utilizarse tanto en sujetos inmunocompetentes como inmunosuprimidos; no obstante, cabe señalar que la sensibilidad de las determinaciones puede ser afectada por la tasa de aclaramiento antigénico del cuerpo y por la formación de complejos antígeno/anticuerpo en los contenedores previos al ensayo.

Un diagnóstico serológico preciso depende de: a) los resultados de diversas pruebas serológicas realizadas con una batería de antígenos (incluidos los de géneros antigénicamente relacionados), b) un examen de especímenes de sueros seriados para detectar cambios temporales en el título y c) un análisis de los resultados de las pruebas de detección de antígenos (en caso de estar disponibles). Además, el conocimiento de la historia clínica del paciente, así como de la terapia recibida son necesarios para la correcta interpretación de los resultados de las pruebas serológicas (Tabla 25-5).

Galactomanano: diagnóstico de aspergilosis

El galactomanano es un componente de la pared celular de *Aspergillus* sp. que es liberado al microambiente circundante durante el crecimiento fúngico, lo mismo que en procesos de invasión tisular. En 2003, la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos aprobó el uso de un EIA (del inglés *Enzyme Immunoassay*, o inmunoensayo ligado a enzimas) doble sándwich de galactomananos (Platelia *Aspergillus* EIA®; Bio-Rad Laboratories, Inc.) para el diagnóstico de aspergilosis invasiva en pacientes adultos. Los resultados del ensayo se reportan en términos del GMI (índice galactomanano) u ODI (índice de densidad óptica) que representa la razón de la densidad óptica de la muestra problema comparada con la de un suero control incluido en el kit comercial. Un valor de GMI de 0.5 es el punto de corte para positividad hace poco aprobado por la FDA. El uso de valores de punto de corte más altos incrementa la probabilidad de resultados falsos negativos, mientras que los puntos de corte más bajos incrementan

Tabla 25-5. Ensayos serológicos comerciales para el diagnóstico de infecciones fúngicas

Micosis	Nombre comercial de la prueba	Ensayo[a]	Analito[b]	Espécimen[c]
Aspergilosis	*Aspergillus Antibody Immunodiffusion*	ID	Ab	Suero
	Platelia *Aspergillus* Ag	EIA	Ag	Suero, LBA
	Platelia *Aspergillus* IgG	EIA	Ab	Suero, plasma
Blastomicosis	OMEGA *Blastomyces Antibody Enzyme Immunoassay*	EIA	Ab	Suero
	Mvista *Blastomyces dermatitidis Quantitative Antigen EIA*	EIA	Ag	Orina, suero, LCR, LBA, plasma
Candidiasis	Platelia *Candida Ag Plus*	EIA	Ag	Suero, plasma
	Platelia *Candida Ab Plus*	EIA	Ab	Suero, plasma
	Cand-Tec Candida Detection	AL	Ag	Suero
Coccidioidomicosis	OMEGA *Coccidioides Antibody Enzyme Immunoassay*	EIA	Ab	Suero
	Premier Coccidioides EIA	EIA	Ab	Suero, LCR
	Mvista Coccidioides Quantitative Antigen EIA	EIA	Ag	Orina, suero, LCR, LBA, plasma
Criptococcosis	*Cryptococcal Antigen Latex Agglutionation*	AL	Ag	Suero, LCR
	Premier Cryprococcal Antigen	EIA	Ag	Suero, LCR
	ALPHA Cryptococcal Antigen Enzyme Immunoassay (CrAg EIA)	EIA	Ag	Suero, LCR
	Cryptococcus Antigen Lateral Flow Assay	FL	Ag	Suero, LCR
	Pastorex Cryptococcus Plus	AL	Ag	Suero, LBA, LCR, orina
Histoplasmosis	*ALPHA Histoplasma Antigen Enzyme Immunoassay*	EIA	Ag	Orina
	Mvista Histoplasma capsulatum Quantitative Antigen EIA	EIA	Ag	Orina, suero, LCR, LBA, plasma
	Histoplasma Dx Select	EIA	Ab	Suero

Lindsley, M., *The Future of Fungal Serology*. Curr Fungal Infect Rep, 2013. 7(3): p. 161-170. Reproducida con permiso.
[a] ID = inmunodifusión, LA = aglutinación en látex, EIA = enzimoinmunoensayo, FL = flujo lateral.
[b] Ab = anticuerpo, Ag = antígeno.
[c] LBA = lavado bronquioalveolar, LCR = líquido cefalorraquídeo.

la sensibilidad de la prueba y, por ende, el riesgo de resultados falsos positivos.

La prueba de Platelia para la determinación de galactomananos ya se encuentra bien estandarizada y su uso es bastante amigable; sólo se requiere de 300 µL de muestra para el análisis, que demora cerca de cuatro horas. Además, el diseño del kit permite su división en varias partes, lo que facilita su manejo y evita el desperdicio de insumos cuando se analizan pocas muestras. Aunque la prueba se asocia por lo general con elevada sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de aspergilosis invasiva, se ha observado cierta variabilidad en los valores obtenidos y su valor predictivo. En particular, se pueden obtener resultados falsos positivos debido al uso de antibióticos betalactámicos (piperacilina-tazobactam, amoxicilina-clavulanato, etc.) y la presencia de otras micosis invasivas (*Penicillum*, histoplasmosis o blastomicosis). Por otra parte, los resultados falsos negativos pueden ocurrir debido a la administración previa o concomitante de terapia antifúngica, una infección latente o por una carga fúngica baja.

Recuadro 25-2. Candidiasis

La candidiasis es una infección fúngica originada por diversas especies de levaduras oportunistas pertenecientes al género anamórfico *Candida*, presenta un amplio espectro clínico y afecta en particular membranas mucosas, piel, uñas y excepcionalmente pulmones e intestino. La siguiente tabla resume los principales síndromes clínicos asociados con infecciones por *Candida sp.*



Figura 25-2-1. *Candida* sp. es un comensal que forma parte de la microbiota humana. Sin embargo, en casos de desbalance en el estatus inmunológico del hospedero puede originar enfermedad. En la imagen se aprecia crecimiento de *Candida* sp. en mucosa oral (muguet) de paciente diabética.

Tabla 25-2-1. Principales síndromes clínicos asociados con infecciones por *Candida* sp

Síndrome	Características clínicas
Candidiasis orofaríngea (COF)	Es frecuente sobre todo en pacientes con sida y en aquellos que utilizan esteroides mediante inhalación. Se caracteriza por la aparición de placas blanquecinas adheridas a la lengua y en la mucosa oral, en ocasiones con queilitis angular.
Esofagitis candidiásica	Este trastorno esofágico es más común en pacientes con sida. Representa una extensión de la COF y suele acompañarse de disfagia y dolor torácico.
Manifestaciones cutáneas	Se presentan en especial en las áreas de la piel continuamente húmedas. Es frecuente en la *zona del pañal* en los lactantes, en la piel perianal, en los pliegues submamarios y en la zona interdigital.
Candidiasis diseminada	Constituye la cuarta causa más usual de sepsis nosocomial. Se observa sobre todo en pacientes gravemente inmunosuprimidos, con neutropenia profunda y/o trasplantados. Los factores de riesgo básicos son el uso de catéteres endovenosos y la antibioticoterapia de amplio espectro.

Si bien la determinación de galactomananos fue estudiada y aprobada al inicio para su uso en la evaluación de muestras de suero para diagnóstico de aspergilosis invasiva, hoy en día dicha prueba también puede usarse en otros especímenes biológicos, como el lavado bronquioalveolar en pacientes con sospecha de aspergilosis pulmonar.

El betaglucano como un marcador serológico panfúngico

A diferencia del galactomanano, encontrado selectivamente en el género *Aspergillus*, el betaglucano es un polisacárido localizado en la membrana celular de muchos patógenos fúngicos, excepto las especies de *Mucor* y *Cryptococcus*. Debido a que el betaglucano se expresa en muchos hongos y no en mamíferos, bacterias y virus, la detección de betaglucano en la sangre u otro espécimen biológico representa en esencia un marcador panfúngico razonable para el diagnóstico de infecciones fúngicas. El ensayo Fungitell® (Associates of Cape Cod, Inc.) es una prueba disponible de manera comercial en Estados Unidos y cuenta con la aprobación de la FDA para la detección de betaglucano en el suero; es útil para el diagnóstico de infecciones fúngicas.

Durante una fungemia se liberan al torrente sanguíneo pequeñas cantidades de betaglucano; el ensayo

Fungitell® puede detectar betaglucanos en el suero y generar resultados en dos horas. Esta prueba utiliza un factor de coagulación (factor G) aislado de las células sanguíneas del cangrejo herradura para detectar de modo selectivo betaglucanos mediante un ensayo colorimétrico.

Una de las principales ventajas de la determinación de betaglucano con fines diagnósticos es la habilidad de detectar un amplio rango de infecciones fúngicas invasivas, lo mismo que su elevada sensibilidad y especificidad. Sin embargo, esta prueba posee ciertas desventajas, entre éstas que su uso no es necesariamente amigable (los usuarios deben utilizar la totalidad de la placa cuando realicen la determinación, incluso si se desea correr pocas muestras) y no es posible obtener información específica acerca del patógeno fúngico. Asimismo, una serie de factores puede propiciar resultados falsos positivos, incluida la administración de anticuerpos o preparaciones de albúmina contaminadas con componentes fúngicos, la presencia de una infección bacteriana intensa, el recubrimiento de superficies serosas con gasa que contienen glucano, y quizá el uso de ciertos antibióticos (p. ej., piperacilina-tazobactam).

Los estudios iniciales sugieren que los ensayos de betaglucano pueden combinarse, ya sea con la cuantificación de galactomananos o con la determinación de anticuerpos contra antígenos específicos para *Candida*, con el objetivo de mejorar la sensibilidad y el valor positivo predictivo.

Desarrollo de vacunas contra patógenos fúngicos

La vacunación tiene como objetivo exponer el sistema inmunológico del hospedero a un patógeno específico con el fin de generar memoria inmunológica, con la cual puede enfrentar de manera eficiente infecciones subsecuentes ocasionadas por el mismo patógeno. Las principales estrategias utilizadas en la vacunación contra infecciones fúngicas incluyen el uso de DNA fúngico, de extractos proteicos antigénicos provenientes de la pared celular o el citoplasma del hongo, y de patógenos atenuados. A pesar de que hay importantes similitudes entre las células fúngicas y las humanas, la lista de antígenos fúngicos inmunogénicos potenciales para hospederos mamíferos va en aumento. Un aspecto crucial en el desarrollo de vacunas para combatir procesos infecciosos fúngicos es entender el tipo de respuesta inmunológica inducida en el hospedero que permita erradicar o controlar la infección; también se busca que esta respuesta efectora permanezca funcional en un hospedero inmunocomprometido. Diversos estudios han descrito algunas vacunas fúngicas experimentales que ofrecen protección cruzada contra ciertos patógenos, en especial *C. albicans*, *C. neoformans* y *A. fumigatus* (Tabla 25-6). Algunas de las vacunas fúngicas más prometedoras son aquellas basadas en proteínas, pero también las que consisten en conjugados de azúcares.

Las primeras vacunas desarrolladas, en particular contra *Candida* sp. que llegaron a ensayos preclínicos, se enfocaron en un conjugado proteico de laminaran (glucano obtenido de algas marrones) unido a la toxina diftérica como proteína acarreadora; esta vacuna mostró una protección significativa contra la candidiasis diseminada y vaginal en modelos murinos, y confirió protección cruzada contra *Aspergillus*.

Los enfoques posteriores incluyeron mananos aislados de *Candida* conjugados con albúmina sérica humana como acarreador, proteínas de choque térmico, conjugados de péptidos con mananos fúngicos y otras proteínas de superficie de *Candida* (p. ej., HYR1), lo mismo que *S. cerevisiae* termoatenuada como agente inmunomodulador panfúngico. Hace poco se utilizó el extremo *N*-terminal de la adhesina Als3p de *C. albicans* como un enfoque novedoso que demostró conferir protección efectiva contra *Candida* sp. Esta vacuna experimental ya completó la fase I de las pruebas clínicas y resulta muy prometedora. Por otra parte, con respecto al desarrollo de vacunas contra *Aspergillus* sp., ya se ha probado el efecto protector en ratones de algunos extractos proteicos, en especial de *A. fumigatus*; tal es el caso del Asp f16 y el Aspf3. En cuanto al *C. neoformans*, uno de los principales antígenos que se han utilizado para el desarrollo de vacunas contra esta levadura encapsulada, incluye el glucoronoxilomanano (GXM) de su cápsula, lo mismo que mezclas complejas de proteínas obtenidas de la extracción bioquímica de manoproteínas de su superficie celular o bien cultivos antigénicos filtrados (CneF).

Un aspecto fundamental por considerar en el campo de la vacunación contra infecciones fúngicas oportunistas es la identificación de la población blanco en sujetos con inmunosupresión profunda. En este punto, la evaluación del riesgo de contraer una infección es crucial; así, la identificación de aquellos pacientes que se encuentran en alto riesgo podría justificar el costo y los posibles efectos adversos de la vacunación. En este sentido, hay varias indicaciones de que un número grande de sujetos en riesgo podrían beneficiarse de la inmunización activa contra *Candida* sp. y *Aspergillus* sp.

Tabla 25-6. Vacunas fúngicas experimentales

Vacuna	Fuente	Patógenos blanco
Laminaran	Betaglucano del alga marrón (laminaria)	*Candida* y *Aspergillus* sp.
rAls3p-N*	Extremo N-terminal de la adhesina Als3p de *C. albicans*	*C. albicans* y múltiples aislamientos de *S. aureus*
Crf1	Gluconasa de pared celular de *A. fumigatus*	*Candida* y *Aspergillus* sp.
Fba	Proteína de pared de *C. albicans*, aldolasafructosabifosfato	Múltiples cepas de *C. albicans*
rHyr1p-N	Proteína de superficie celular de *C. albicans* Hyr1	*C. albicans* y *Candida* sp. no-*albicans*
HKY	Células termoatenuadas de *S. cerevisiae* (principalmente glucanos)	*Aspergillus* y *Coccidioides* sp.
HSP65 DNA	Derivada de *Mycobacteriumleprae*	*P. brasiliensis*
Proteína de fusión P10-FliC	P10 de *P. brasiliensis* y flagelina FliC de *Salmonella entérica*	*P. brasiliensis*
Conjugado PA-GalXM	PA de *B. anthracis* y proteína GalXM de *C. neoformans*	*C. neoformans*

Hamad M. *Universal fungal vaccines: could there be light at the end of the tunnel?* Hum Vaccin Immunother. 2012; 8 (12): 1758-1763. Reproducida con permiso.
*Completada la fase I de pruebas clínicas.

Las principales barreras para la vacunación contra infecciones fúngicas invasivas incluyen la respuesta inmunológica que se desencadena en la población blanco, la colonización fúngica preexistente de los pacientes y el tamaño del mercado. Sin embargo, pese a que la población inmunocomprometida va en aumento, y junto con ésta la incidencia y emergencia de infecciones fúngicas, hoy por hoy la barrera más grande para el desarrollo de vacunas es la falta de capital disponible con facilidad; éste es necesario para trasladar los descubrimientos de laboratorio a productos biológicos clínicamente efectivos que se utilicen en la práctica médica. Lograr lo anterior implica el pago de los enormes costos requeridos para la manufactura, los ensayos de toxicidad preclínica y los estudios clínicos subsecuentes, entre otros factores que deben tomarse en cuenta. La percepción de que las infecciones fúngicas representan pequeños mercados dificulta en gran medida que se obtenga capital del sector comercial.

Resumen

En las últimas décadas las infecciones fúngicas han cobrado gran importancia clínica. La aparición del virus de inmunodeficiencia humana (HIV) y de cepas fúngicas resistentes a los tratamientos convencionales, además del uso de tratamientos inmunosupresores, en especial en pacientes trasplantados o con enfermedades autoinmunes, son factores importantes en el aumento de las infecciones fúngicas. Los patógenos fúngicos (al igual que las bacterias, los virus y parásitos) contienen patrones moleculares asociados a patógenos que pueden ser reconocidos por el sistema inmune mediante receptores expresados en la superficie de las células fagocíticas (PRR). La interacción huésped-patógeno conduce a la producción de citocinas, la cual dependerá del estímulo inicial. La producción de citocinas y quimiocinas inflamatorias (IL-1, TNF-α, IL-12, IL-6, MIP-2, MIP-1, G-CSF y GM-CSF) en las etapas tempranas de la infección es importante para el control del patógeno.

La activación de la respuesta inmune adquirida también juega un papel relevante en el control de las infecciones fúngicas, en especial de aquellas mediadas por linfocitos Th1, Th17 y Th2; las primeras dos subpoblaciones de linfocitos cooperan con la producción de citocinas, mientras que los linfocitos Th2 favorecen la respuesta inmune humoral por medio de la producción de anticuerpos. Los linfocitos T $CD8^+$ se han asociado con un efecto protector contra diversos patógenos fúngicos, entre otros *Candida albicans* y *Coccidioides* sp. La evasión de la respuesta inmune por estos patógenos se caracteriza principalmente por la inhibición del reconocimiento de estructuras, la fagocitosis y la activación de mecanismos microbicidas, lo mismo que por la inducción de linfocitos T reguladores, para favorecer así su sobrevivencia en el hospedero. Por último, un reto actual es la falta de vacunas efectivas contra los hongos; es necesario enfocarse a la identificación y evaluación de antígenos que generen una respuesta inmune protectora como posibles candidatos para el desarrollo de vacunas.

Lecturas sugeridas

Brown GD. Innate antifungal immunity: the key role of phagocytes. *Annual Review of Immunology*. 2011;29:1-21.

Cottier F, Pavelka N. Complexity and dynamics of host-fungal interactions. *Immunologic Research*. 2012;53(1-3):127-35.

Hamad M. Universal fungal vaccines: could there be light at the end of the tunnel? *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2012;8(12):1758-63.

LeibundGut-Landmann, S., M. Wuthrich, and T.M. Hohl, Immunity to fungi. *Curr Opin Immunol*, 2012. 24(4):449-58.

Levitz SM. Innate recognition of fungal cell walls. *PLoS Pathog*. 2010;6(4):e1000758.

Romani L. Immunity to fungal infections. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(4):275-288.

Capítulo 26

Respuesta inmunológica a helmintos

Romel Hernández Bello • Saé Muñiz Hernández • Lilián Yépez Mulia

Respuesta inmunológica a parásitos

Los helmintos son organismos multicelulares. En su mayoría son especies parasitaras e incluyen a nematodos, trematodos y cestodos. Estos organismos infectan a millones de personas y causan efectos indirectos sobre la salud; uno de los cuales es la malnutrición, que ocasiona una disminución en el crecimiento de los niños y afecta sus funciones cognitivas.

Los parásitos helmintos tienen amplia variabilidad biológica, lo mismo que múltiples tipos de hospederos y rutas de infección. En el hospedero humano, los helmintos pueden estar presentes en diferentes estadios de desarrollo, ya sea en forma de huevos, larvas o gusanos adultos. Según el momento de su ciclo de vida, afectan diferentes órganos, por ejemplo colon, intestino delgado, pulmones e hígado.

Algunos parásitos –*Trichuris* sp. *Enterobius* sp. *Taenia* sp. y *Fasciola* sp. entre otros– tienen ciclos de vida simples en los que inicialmente el huevo es excretado en las heces; éste puede requerir o no un proceso de maduración en el suelo y luego ser infectivo para un nuevo hospedero. Los parásitos que se transmiten por quistes pueden estar presentes en la carne de consumo humano (hospedero intermediario). Una vez ingerido el huevo o el quiste, éste eclosiona y completa las fases larvarias en el intestino; al llegar a estadio adulto, el macho y la hembra copulan y generan miles de huevos o quistes infectivos (Figura 26-1). En tales casos, la estrategia del parásito se centra en modular la respuesta inmunológica en el sitio de anclaje a la infección.

Otros ciclos de vida presentan mayor complejidad. En éstos, los parásitos adultos también se localizan en el intestino, pero el proceso de diferenciación de la larva (L1 a L4) precisa que se realice una migración a través de los órganos del hospedero, como pulmón, alveolos, tráquea, faringe, hígado y estómago. Un helminto que presenta este ciclo de vida es el nematodo *Ascaris lumbricoides*. Durante dicha migración, los estados larvales generan y secretan gran variedad de proteínas necesarias para el establecimiento y migración a través de los tejidos. Varias moléculas de este tipo tienen una función relacionada con la evasión o modulación de la respuesta inmunológica del hospedero. Una vez que las larvas se diferencian en hembras y machos adultos, copulan y la hembra libera huevos larvados que salen al exterior en las heces (Figura 26-2).

Por último, el ciclo de vida de otros parásitos se caracteriza porque inicia con la penetración de la epidermis. En este caso, el estado infectante (larva

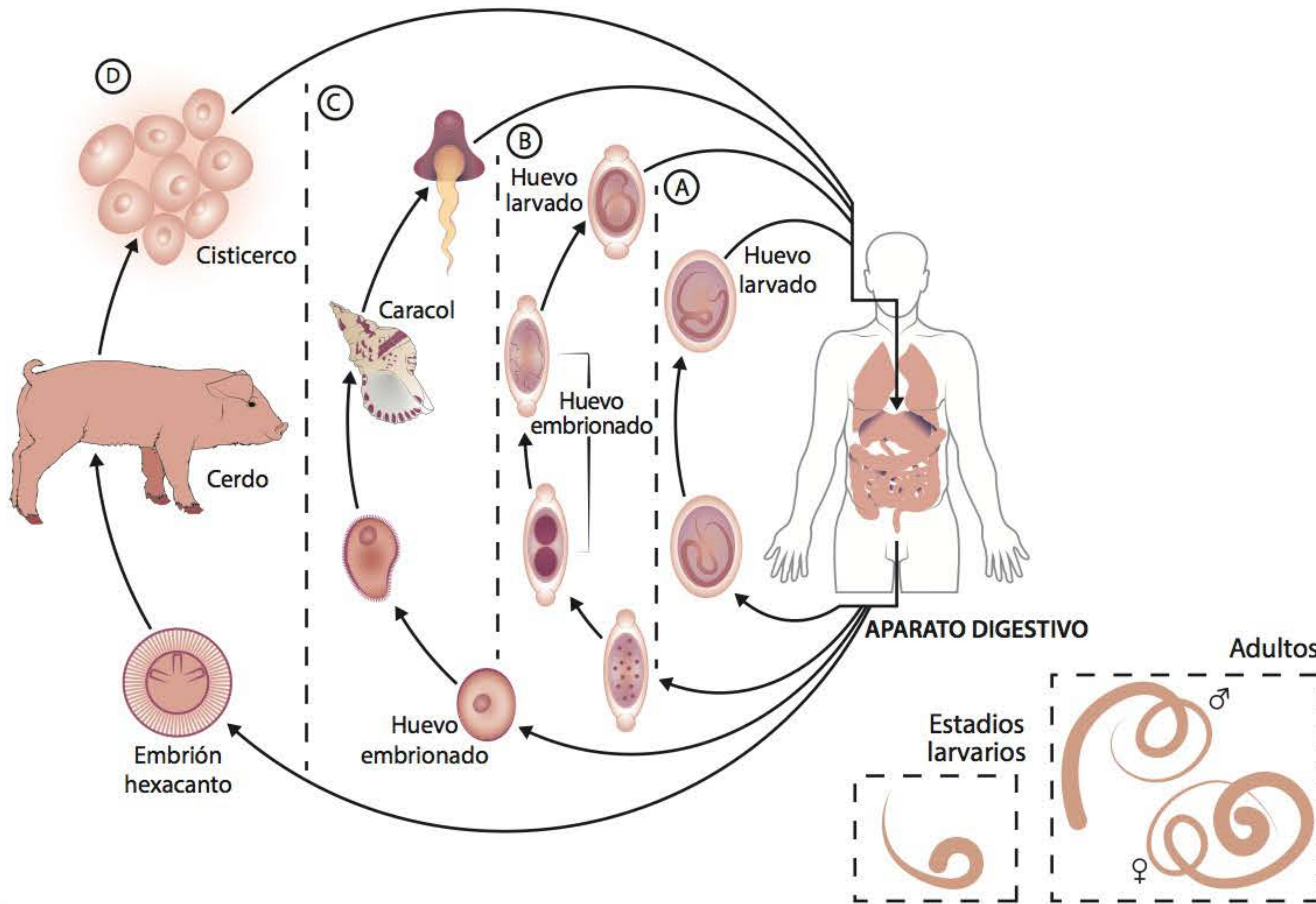


Figura 26-1. Ciclo de vida general de *Trichuris* sp., *Enterobius* sp. y *Fasciola* sp.
El huevo larvado es ingerido y la larva completa sus fases de desarrollo en el intestino hasta alcanzar el estadio adulto. El macho y la hembra copulan y liberan huevos larvados (A, *Enterobius*). En algunos ciclo de vida, los parásitos adultos liberan huevos embrionados, los cuales maduran en el suelo (B, *Trichuris* sp.) o requieren un hospedero intermediario para completar su desarrollo y llegar a su estadio infectivo: cercaria en el caso de *Fasciola* sp. (C) o cisticerco en el caso de *Taenia sp* (D).

filariforme o L3) presente en el medio penetra en el hospedero a través de la piel. En algunos casos se requiere la presencia de un vector de transmisión (artrópodo) u hospedero intermediario (gasterópodo), en el cual se genera la fase infectiva para el ser humano. Algunos parásitos que presentan este tipo de ciclo de vida son *Strongyloides* sp., *Onchocerca* sp., *Necator* sp., *Schistosoma* sp. y *Ancylostoma* sp. El ciclo comienza con la inoculación de la larva L3, que migra por el pulmón, los alveolos, la tráquea y la faringe. Luego se ingiere y llega al intestino delgado, donde se diferencia de L3 a L4, L5 y, por último, a adulto. La hembra y el macho copulan y la hembra libera los huevos fertilizados en la mucosa intestinal. Los huevos eclosionan y dan lugar a larvas rabditiformes que son liberadas en las heces. Estas larvas pueden desarrollarse hacia larva filariforme (*Necator* sp. y *Ancylostoma* sp.) o diferenciarse en macho y hembra, copular y liberar huevos embrionados de los que eclosiona la larva filariforme (*Strongyloides* sp.). En caso de que exista un vector artrópodo (*Onchocerca* sp.), la microfilaria se diferencia en L1,

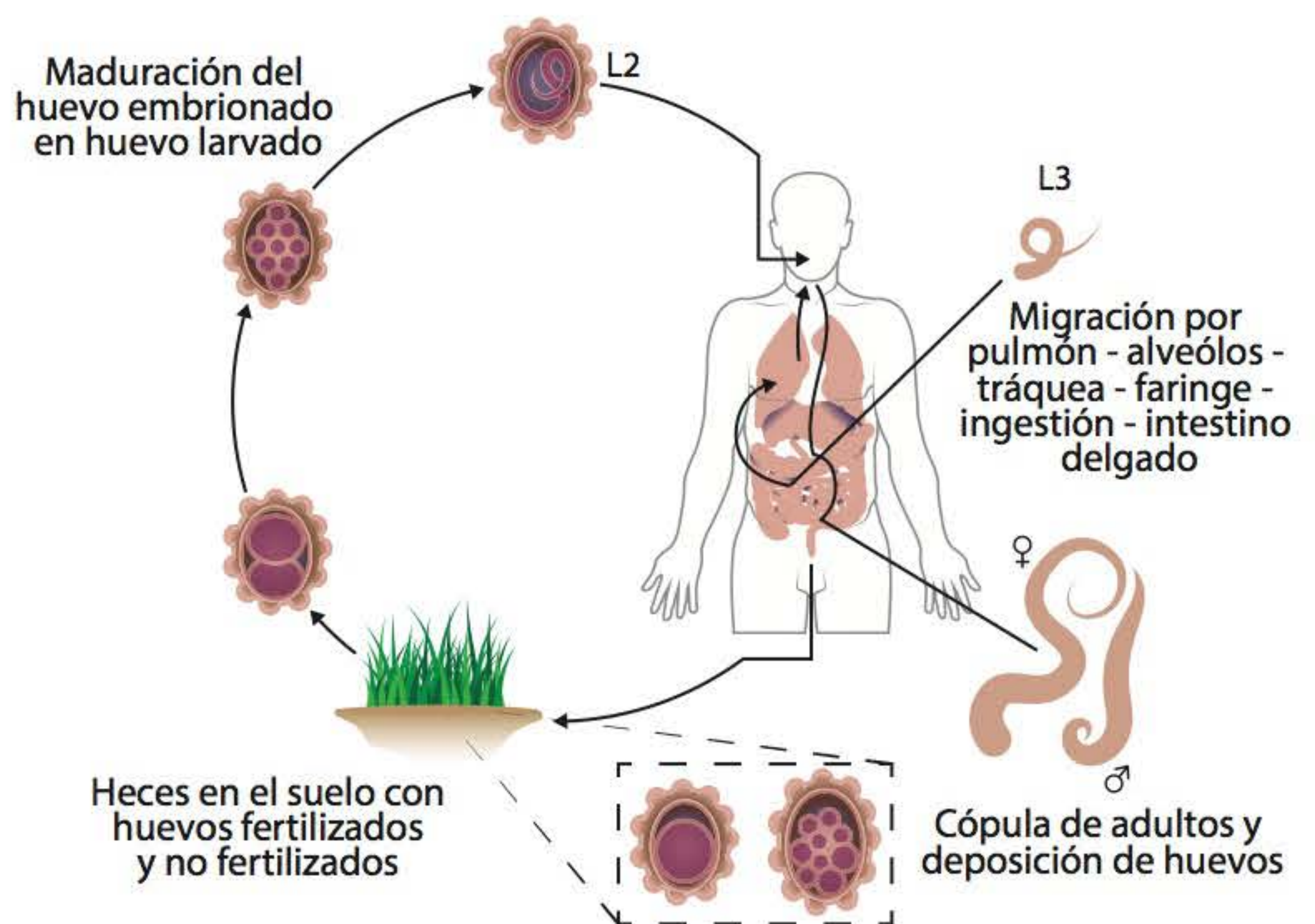


Figura 26-2. Ciclo de vida general de *Ascaris lumbricoides*
El huevo embrionado es liberado en las heces y su proceso de maduración conlleva un periodo en incubación en el suelo para convertirse en huevo larvado, el cual es infectivo (L2). Al ser ingerido, alcanza el intestino e inicia la migración a los órganos en el siguiente orden: pulmón, alveolos, tráquea, faringe (ingestión), estómago e intestino delgado. Así completa su diferenciación de L2 a L3 y, por último, a adulto macho y hembra. Éstos copulan y la hembra libera los huevos embrionados al exterior en las heces.

L2 y L3; ésta pasa a la probóscide del artrópodo y es inoculada a un nuevo hospedero cuando el insecto se alimenta. Si en el ciclo de vida interviene un gasterópodo como hospedero intermediario (caracol), éste genera las cercarias, que son liberadas al medio y luego penetran la piel del ser humano (Figura 26-3).

La regulación inmunológica ocasionada por los parásitos helmintos es un concepto amplio que incluye la supresión, desviación y conversión de la respuesta inmunológica del hospedero en beneficio del propio parásito. En todos los casos, las larvas L3 y el estado dioico del adulto han sido los estadios más estudiados en cuanto al tipo de antígenos de excreción-secreción (E/S) y las sustancias inmunomoduladoras que generan, así como la forma en que éstas afectan las células del sistema inmunológico en respuesta a la parasitosis. En su mayoría, los helmintos evaden la respuesta inmunológica adaptativa del hospedero; la respuesta inmunológica inducida es sobre todo del tipo Th2 e involucra citocinas como la IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13. Estas citocinas median la respuesta inmunológica caracterizada de manera típica por el incremento de los niveles de IgE circulantes y el número de eosinófilos, basófilos y mastocitos. Durante la infección, el sistema inmunológico está expuesto a diferentes moléculas derivadas de los parásitos, entre éstas proteínas, lípidos y glicoconjugados presentes en su superficie o en los productos E/S. La función de las moléculas derivadas de helmintos con las células de respuesta inmunológica del hospedero da como resultado un cambio de la respuesta inflamatoria hacia una respuesta predominantemente antiinflamatoria de tipo Th2 que suele ser "permisiva" a la infección (Figura 26-4). Las moléculas derivadas del parásito modifican la función de las células dendríticas y regulan a la baja la respuesta inmunológica adaptativa mediante la inducción de una red reguladora que incluye linfocitos Treg, M2 (macrófagos activados de forma alterna) y linfocitos Breg.

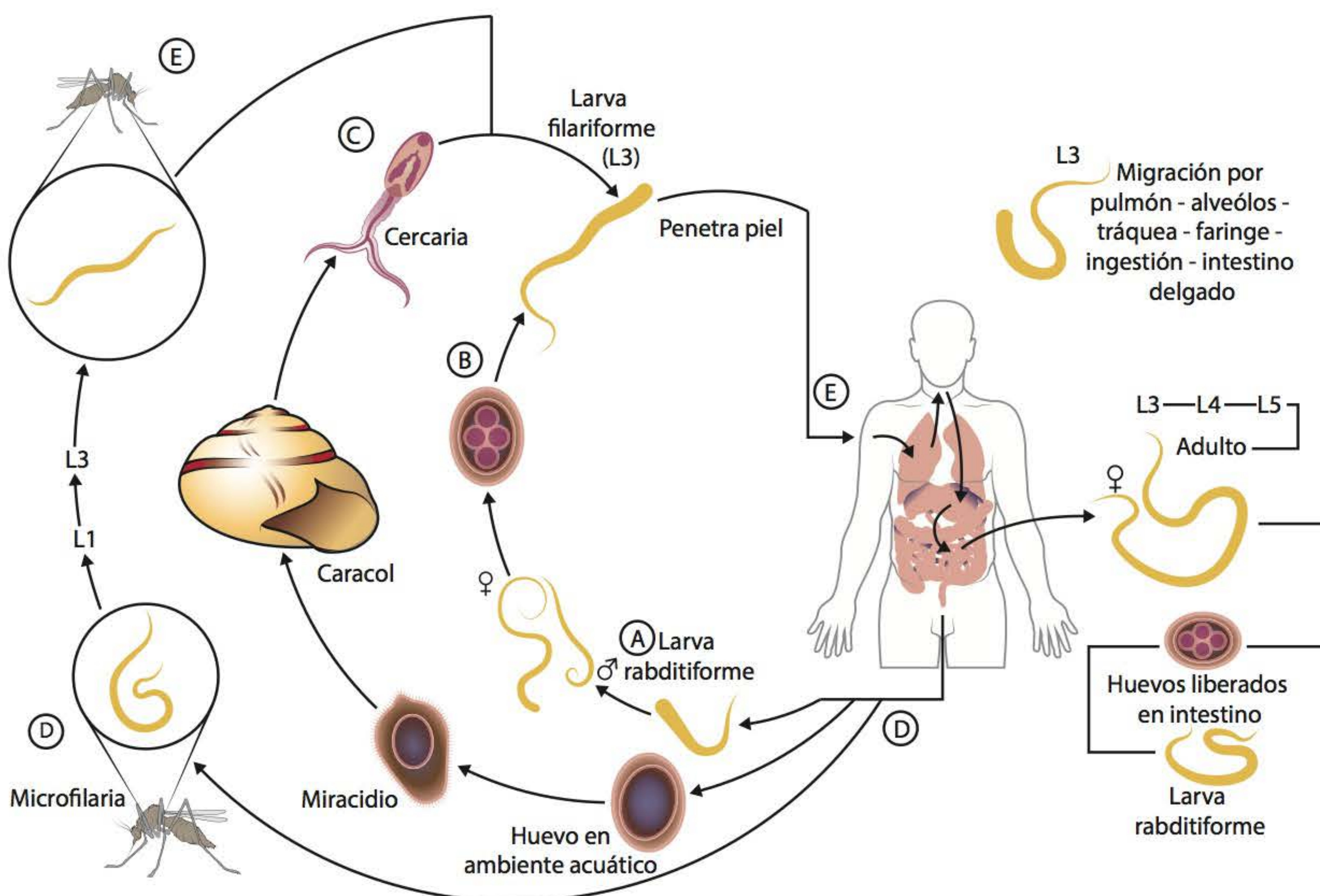


Figura 26-3. Ciclo de vida general de *Strongyloides sp, Wuchereria* sp., *Nippostrongylus* sp., *Brugia* sp., *Onchocerca* sp., *Necator* sp. y *Ancylostoma* sp. La larva filariforme (L3) penetra o es inoculada en la piel del hospedero. La L3 migra hacia el pulmón, los alveolos, la tráquea y la faringe; se ingiere y llega al intestino delgado, donde se diferencia de L3 a L4, L5 y a adulto. La hembra y el macho copulan y la hembra libera los huevos fertilizados en la mucosa intestinal, éstos eclosionan y dan lugar a larvas rabditiformes que se liberan en las heces. Dichas larvas pueden: 1) diferenciarse en larvas filariformes (A, *Necator* sp.), 2) presentar organismos dioicos que copulan, liberan huevos de los que eclosiona la larva filariforma (B, *Ancylostoma sp*), 3) que el miracidio sea ingerido por un gasterópodo (caracol) y en éste se desarrolle la forma infectiva (cercaria) (C, *Schistosoma* sp.) o 4) que la microfilaria sea ingerida por un vector artrópodo en el que se desarrollará en L1 hasta el estadio infectivo (L3), que será inoculada en un nuevo hospedero (D, *Wuchereria* sp., *Brugia* sp., *Onchocerca* sp.).

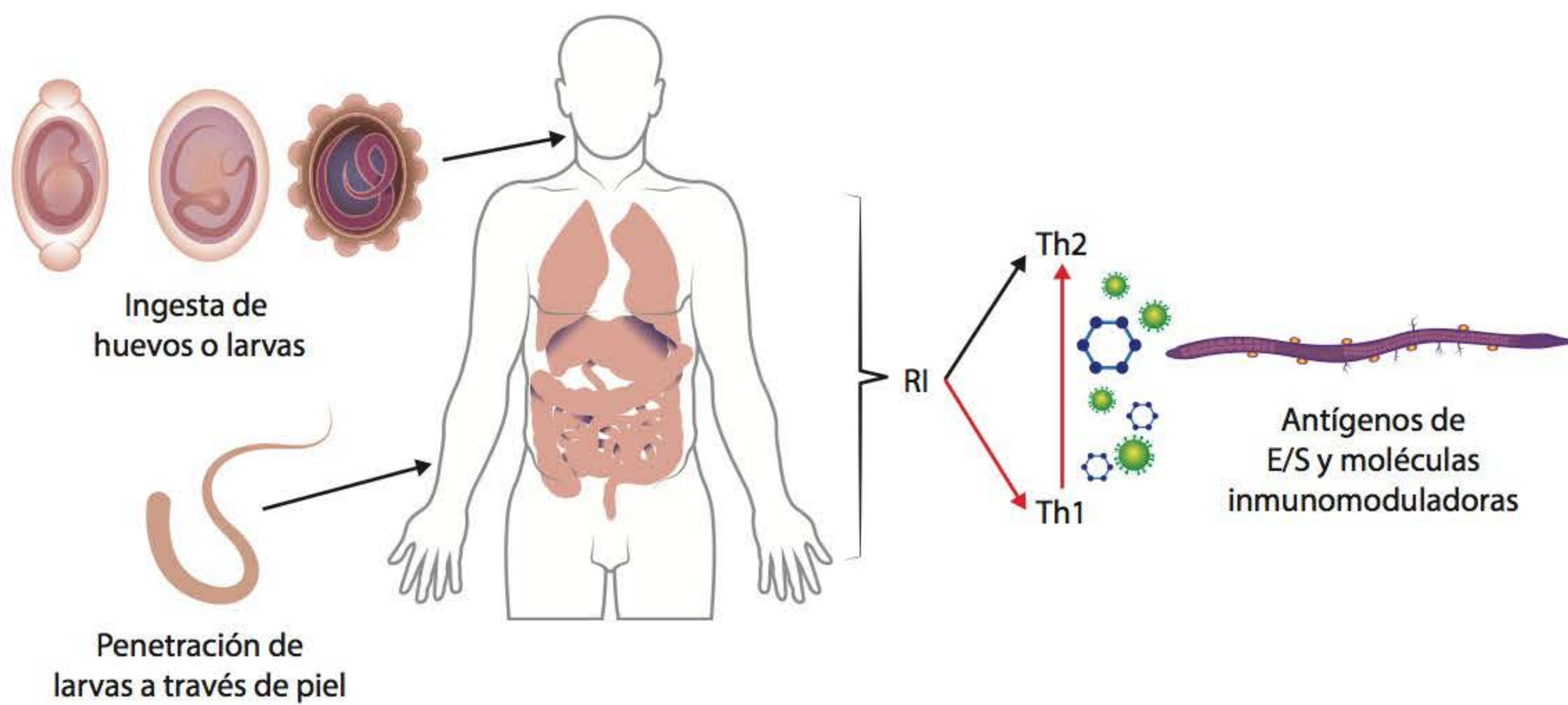


Figura 26-4. **Respuesta inmunológica Th2 generada por proteínas del parásito**
Durante el inicio de la infección, ya sea por la ingesta de huevos larvados o por la penetración de larvas a través de la piel, se genera de inicio una respuesta inmunológica (RI) tipo Th1. Conforme la larva se desarrolla y se completa el ciclo, los componentes del parásito (E/S, proteínas inmunomoduladoras, etc.) modulan y modifican la respuesta inmunológica hacia un tipo Th2 permisiva a la infección.

Parásitos intestinales

La microbiota intestinal es fundamental para determinar el estado de desarrollo metabólico e inmunológico del hospedero mamífero; sin embargo, el tracto intestinal también puede albergar organismos patógenos como los helmintos, que son muy frecuentes en la mayoría de los países tropicales.

La capacidad inmunomoduladora de parásitos helmintos por medio de los antígenos E/S ha sido descrita de manera profusa, y en la actualidad se está evaluando su uso terapéutico en condiciones de alergia o enfermedades autoinmunes. Algunos estudios han demostrado efectos benéficos al utilizar infecciones con helmintos como tratamiento oral para atender enfermedades de inflamación intestinal –por ejemplo la colitis–, pero no existe información disponible respecto de los efectos a largo plazo. Hay consideraciones que deben tomarse en cuenta antes de sugerir una terapia con parásitos helmintos, entre otras los problemas éticos y de higiene. Esto es razón suficiente para considerar que la investigación debe dirigirse a la identificación de productos parasitarios antiinflamatorios, su purificación y posterior síntesis bajo procesos farmacéuticos. Los datos en la literatura sobre el efecto de la terapia con parásitos helmintos en desórdenes autoinmunes e infecciones concurrentes en pacientes humanos son casi inexistentes. En modelos animales, se han mostrado efectos benéficos de infecciones con helmintos concurrentes con diabetes, artritis y el modelo animal de la esclerosis múltiple (encefalomielitis experimental autoinmune). Los datos obtenidos en los ejemplos anteriores sugieren que el efecto benéfico se produce mediante la contrarregulación de la respuesta inflamatoria Th1.

Nippostrongylus brasiliensis, *Trichinella spiralis*, *Heligmosomoides polygyrus* y *Trichuris muris*

La incidencia global de casos de infección se estima en alrededor de mil millones de personas por cada una de estas especies: *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale* y *Trichuris trichura*. Algunos modelos experimentales han contribuido a la comprensión de la respuesta inmunológica que se genera durante tales infecciones, al enfocarse en las especies de parásitos *N. brasiliensis*, *T. spiralis*, *H. polygyrus* y *T. muris*, que pueden reproducirse en ratones.

Los linfocitos Th tienen un papel central en la resistencia a la infección en las cuatro especies mencionadas. Los linfocitos Th pueden dividirse de forma clásica en dos subgrupos, Th1 y Th2, lo mismo en humanos que en ratones; esto proporciona las bases para comprender el mecanismo de regulación y control de resistencia a la infección. Los linfocitos Th1

son productores de IFN-γ, linfotoxina e IL-2, mientras que los linfocitos Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13. La vía de diferenciación hacia Th1 y Th2 es influenciada por varios factores; el más representativo es la presencia de citocinas en el ambiente inmediato, de tal forma que la IL-12 promueve el desarrollo de Th1, mientras que la IL-4 provoca el desarrollo de Th2. La interacción entre cada citocina y su receptor promueve la activación de moléculas de señalización que incluyen a la familia STAT (del inglés *Signal Transducer and Activator of Transcription Protein*, o proteína transductora de señal y activadora de la transcripción), de la cual dos están involucradas en el desarrollo de las subclases de linfocitos Th: STAT-4, que es activada por IL-12 y es importante en el desarrollo de los linfocitos Th1, y STAT-6, que es activada por IL-4 y promueve los linfocitos Th2.

Respuesta Th1

En el modelo murino de infección con *T. muris* se ilustra de la mejor manera el efecto que las citocinas Th1 tienen sobre la respuesta inmunológica protectora del hospedero hacia la infección de parásitos intestinales. Las cepas de ratones susceptibles generan una respuesta caracterizada por elevados niveles de IFN-γ e IgG2α específicos contra el parásito; si los ratones son tratados con anticuerpos α-IFN-γ durante el desarrollo de los primeros estadios larvarios, son capaces de expulsar los parásitos y generar una respuesta tipo Th2. En cambio, si son tratados con anticuerpos α-IL-12 en etapas tempranas a la infección se promueve la resistencia hacia la infección por el parásito.

Respuesta Th2

La IL-4 parece ser importante en el desarrollo de resistencia a *T. muris* y *H. polygyrus*. Lo anterior se hizo evidente en un estudio experimental donde se administró IL-4 acomplejada con un anticuerpo α-IL-4 a ratones con infección crónica, lo que dio como resultado un aumento en el tiempo de vida media y facilitó la expulsión de dichos parásitos. De igual forma, la IL-4 ha mostrado tener un papel importante en el desarrollo de la resistencia a infecciones primarias con *Trichinella spiralis*. Modelos murinos tratados con anticuerpos α-IL-4 durante la infección con este parásito muestran un prolongado establecimiento de la infección del estadio adulto en el intestino y mayor carga parasitaria a nivel muscular dada por la larva muscular (LM o L1). La IL-3 y la IL-9 son citocinas importantes en la respuesta tipo Th2. En el caso de la IL-3, ésta se genera durante la respuesta inmunológica primaria a la infección con *T. muris*, mientras que la IL-9 es producida en grandes cantidades en cepas de ratón resistentes a la infección por *T. spiralis*.

Durante la infección con estos parásitos se ha observado una marcada eosinofilia con un incremento de la IL-5; sin embargo, el papel protector de dichas células aún no ha sido aclarado. Con respecto a los mastocitos, su desarrollo es controlado por las citocinas IL-3, IL-4, IL-9, IL-10 y el factor de crecimiento de células madre; no obstante, parecen ser no esenciales en la resistencia a la infección primaria por *T. muris*. Por el contrario, en la infección experimental por *T. spiralis*, éstos parecen tener un papel principal en el desarrollo de la resistencia. La infección de ratones con *T. spiralis* provoca una respuesta inflamatoria intensa en el intestino delgado y los mastocitos representan el principal componente de esta inflamación. Dichos hallazgos han sido corroborados por diferentes estudios que demuestran que estos mastocitos son funcionalmente activos.

En el estudio de muchas infecciones de nematodos intestinales se ha descrito hiperplasia de células caliciformes e incremento en la producción de mucina; se piensa que tales cambios son controlados, al menos en parte, por las células Th2. En infecciones murinas con *T. spiralis* y *T. muris* el desarrollo de hiperplasias es prominente, con una correlación entre la expulsión del parásito y el pico de producción de mucina.

Taenia solium

La cisticercosis es una parasitosis endémica en muchas regiones de América Latina, Europa del Este y Asia, incluidas China y la India. El estado de gusano de *T. solium* es específico del hospedero humano; no se ha demostrado en condiciones naturales que dicho estado se encuentre en otras especies, por ello se considera que el ciclo de reproducción natural de la *Taenia* ocurre de manera exclusiva en humanos (véase la Figura 26-3). Una vez que se ingiere el cisticerco, el gusano adulto se desarrolla y comienza a expulsar huevecillos durante alrededor de los siguientes cuatro meses. La infección con *T. solium* es en su mayoría asintomática. Cuando el ser humano ingiere estos huevecillos, el embrión hexacanto se distribuye por el torrente sanguíneo y el cisticerco resultante se desarrolla en prácticamente cualquier tejido. Sin embargo, lo más común en nuestra población es que infecte el sistema nervioso central. La infección en el sistema nervioso central (neurocisticercosis) es causa de gran morbilidad y mortalidad.

El curso de la infección con *T. solium* consiste en una larga fase asintomática que puede durar de tres a cinco años. Dicha fase es seguida de una fase sintomática, y su progresión se ha asociado con la degeneración de la larva causada por la terapia farmacológica; esto conlleva la inducción de respuestas inflamatorias que generan una reacción de granulomatosis crónica y neuropatologías. La amplitud de la fase asintomática sugiere que el parásito tiene la capacidad de modificar o escapar a la respuesta inmunológica generada por el hospedero. Se piensa que la respuesta inmunológica en la neurocisticercosis se debe a una respuesta Th1 abierta o a una mezcla de Th1, Th2 y Th3, de acuerdo con la ausencia o presencia de granulomas. También se sugiere que la respuesta inflamatoria Th1 que prevalece durante la fase sintomática es la causante de las neuropatologías y la morbilidad asociadas a la neurocisticercosis.

Debido a la dificultad inherente al estudio de infecciones de *T. solium* en humanos, la mayor parte del conocimiento sobre los mecanismos inmunológicos asociados con esta patología se ha obtenido de modelos murinos de cisticercosis. En éstos se observaron diferentes mecanismos que influencian el balance entre una respuesta inflamatoria del hospedero que ataca al parásito y la inhibición de la misma, lo cual favorece la supervivencia. Entre los modelos murinos más utilizados se incluyen infecciones con *Taenia crassiceps* o *Mesocestoides corti*. En dichas infecciones experimentales con *T. crassiceps*, la respuesta Th1 inicial es desplazada por una respuesta Th2, de tres a cuatro semanas después de la infección.

Respuesta Th1

Durante la respuesta inmunológica tipo Th1, los macrófagos parecen tener actividad proinflamatoria caracterizada por altos niveles de IL-12, TNF-α y NO. El desarrollo de granulomas alrededor del quiste de la *Taenia* "moribunda" es un componente de la neuropatología que produce epilepsia u otros síntomas neurológicos, los cuales se atribuyen a una fuerte respuesta tipo Th1. En un estudio en el que se implantaron metacestodos de *T. solium* se observó que la expresión del mediador de proinflamación osteopontina –un iniciador temprano de la respuesta tipo Th1, vía estimulación IL-12p40– está disminuida alrededor de los quistes viables. Otros estudios demostraron que la expresión de mRNA de la sustancia P (un neuropéptido) se expresa en altos niveles en los granulomas tempranos, mientras que los niveles de expresión del mRNA de la somatostatina se observan sólo en los granulomas de estados tardíos.

Desafortunadamente, el significado clínico de dichos descubrimientos no es claro y se desconoce si ocurren cambios similares en los humanos; sin embargo, pueden considerarse una guía para futuras investigaciones de la neurocisticercosis humana.

Respuesta Th2

Cuando la infección se vuelve crónica, la respuesta inmunológica se polariza de modo progresivo hacia un perfil Th2, el cual se caracteriza por el decremento en los niveles de IFN-γ y anticuerpos IgG2a, y el incremento en los niveles de IgG1, IgE, IL-4, IL-13 e IL-15. Los macrófagos que son reclutados al sitio de la infección cambian junto con los linfocitos Th y desarrollan un fenotipo con regulación negativa, referido como macrófagos M2. La característica de estos macrófagos es la producción de citocinas que regulan de manera negativa la respuesta inmunológica –como la IL-10 y otras citocinas relacionadas, por ejemplo IL-19, IL-20 y TGF-β–, lo mismo que la activación de la vía alterna de la arginasa-1. A partir de los ensayos en modelos murinos, se ha sugerido que en estados tardíos de la infección los M2 tienen un fuerte efecto inmunomodulador y que la respuesta Th2 favorece la susceptibilidad a la infección, aunque parece proteger de los síntomas neurológicos.

En contraste con los modelos animales, en los cuales los estados de la infección se caracterizan por el reclutamiento o generación de M2, aún no se ha demostrado que lo mismo ocurra en la cisticercosis humana.

Algunos estudios en neurocisticercosis humana se han enfocado en el perfil de mediadores inflamatorios o fenotipos de los linfocitos T en diferentes grupos de pacientes; las conclusiones llevan a determinar que los individuos sintomáticos con neurocisticercosis tienen un perfil de respuesta Th1 en la sangre, mientras que individuos asintomáticos tienen predominantemente respuestas tipo Th2.

PARÁSITOS TISULARES

Wuchereria bancrofti, *Brugia malayi* y *Brugia timori*

La filariasis linfática es una infección causada por tres parásitos nematodos relacionados estrechamente: *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* y *Brugia timori* (véase la Figura 26-3). *Wuchereria bancrofti* es responsable de 90% de los casos de filariasis linfática, mientras que 10% restante es causado por parásitos del género *Brugia*. La filariasis linfática es un problema de salud mundial. En 2013, la Organización Mundial de la Salud estimó que 1.25 billones de personas

de 72 países estaban en riesgo de infección. Cerca de 120 millones de personas están infectadas con filarias y más de 40 millones desarrollan condiciones patológicas, entre éstas elefantiasis.

Todas las filarias que producen una infección en humanos tienen un complejo ciclo de vida que involucra un mosquito vector para *Wuchereria* y *Brugia*. El intrincado ciclo de vida de estos parásitos desencadena una compleja respuesta inmunológica en el hospedero, y se sugiere que tal interacción hospedero-parásito genera la variedad de manifestaciones clínicas de la filariasis linfática. Dichas manifestaciones pueden ir desde una ausencia de síntomas o infecciones subclínicas –caracterizadas por la circulación de la forma parasitaria microfilaria en el torrente sanguíneo– hasta hidroceles y elefantiasis.

Respuesta Th2

La respuesta inmunológica canónica del hospedero hacia filarias tanto en el modelo de ratón como en el humano es de tipo Th2 e implica la producción de citocinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13; de isotipos IgG1, IgG4 (en humanos) e IgE, lo mismo que de eosinófilos y macrófagos M2.

La interacción inicial de linfocitos Th con una variedad de tipos celulares –que incluyen las células dendríticas y macrófagos– induce y culmina en la respuesta Th2. Sin embargo, a diferencia de otras infecciones por helmintos en que las células dendríticas, basófilos e ILC (del inglés *Innate Lymphoid Cells*, o células linfoides innatas) dan inicio a la respuesta Th2, se desconoce su participación en infecciones por filarias. No obstante, se ha reportado que las ILC tipo 2 son importantes en el inicio de la respuesta Th2 en infecciones por helmintos. En estudios recientes se observó que las ILC se expanden en el modelo murino y en los humanos, y producen cantidades importantes de IL-5 e IL-3 antes de que se genere la respuesta Th2 clásica.

La principal característica de una infección crónica por filarias parece ser la presencia de una respuesta Th2 modificada y un ambiente regulado dominado por la IL-10. Datos obtenidos en modelos murinos carentes de linfocitos T o carentes de linfocitos T y B muestran que son susceptibles a la infección por parásitos del género *Brugia* sp., lo que indica que los linfocitos T son cruciales para eliminar la infección. Es probable que el subconjunto de linfocitos T $CD4^+$ o $CD8^+$, medien la resistencia en modelos animales no susceptibles a la infección, debido a que los animales carentes de dichas estirpes celulares son muy susceptibles al desarrollo de esta infección. Cabe resaltar que los modelos animales que generan una respuesta Th2 deficiente son susceptibles a la infección con *Brugia* sp.

Por otra parte, el IFN-γ participa de forma importante para proteger contra la infección, pues los modelos animales que carecen de IFN-γ son incapaces de eliminar el parásito. En infecciones por filarias se encuentran niveles elevados de IgE después de la exposición de la larva L3; en su mayoría la IgE es policlonal. Conviene mencionar que esta producción depende de IL-4 o IL-13, al igual que los isotipos IgG4 e IgG1. Ratones deficientes en IgE mostraron cargas parasitarias elevadas en infecciones con *B. malayi*, lo que resalta la importancia de la IgE en la defensa del hospedero. Asimismo, se observó que la participación de la IgM es necesaria para la protección del hospedero.

El papel de los linfocitos B en la resistencia a la infección aún está en estudio. Las células dendríticas son APC que tienen una función esencial en la presentación de antígenos a los linfocitos T para iniciar la respuesta inmunológica adaptativa. A la fecha no se ha descrito con detalle su participación en infecciones por filarias. La diferenciación y maduración de las células dendríticas en presencia de antígenos de filarias *in vitro* pueden estimular la respuesta Th2 con una regulación negativa en la producción de IL-12. Se ha reportado que filarias *in vitro* inducen la muerte celular de células dendríticas y disminuyen su capacidad para activar linfocitos Th. Por otro lado, los M2 pueden tener un papel predominantemente regulador en este tipo de infección, debido a que parecen tener la habilidad de expandirse en forma local y son menos dependientes del influjo de monocitos a partir de la corriente sanguínea para realizar sus funciones.

En seres humanos, las interacciones tempranas de parásitos o antígenos de parásitos conducen a una respuesta sobre todo proinflamatoria, con la consecuente expresión de citocinas –entre éstas IL-1β, TNF-α e IL-6–, así como la expresión de genes involucrados en inflamación y adhesión (véase la Figura 26-4). Los estudios en modelos murinos de infección por filarias y datos *in vitro* indican que la producción de NO por macrófagos puede ser un evento crucial en la defensa del hospedero contra el parásito.

Schistosoma sp.

La esquistosomiasis es una importante enfermedad tropical que en la actualidad afecta alrededor de 200 millones de personas. En esta enfermedad causada por helmintos trematodos el hospedero monta una respuesta inmunológica hacia los huevos del parásito, *Schistosoma* spp., atrapados en el tejido. Existen

diferentes especies de esquistosoma en la naturaleza; los principales patógenos para el ser humano son *S. masoni*, *S. japonicum* y *S. hematobium*. En el caso de *S. masoni* y *S. japonicum*, la forma adulta coloniza el plexo vascular mesentérico y, en consecuencia, sus huevos afectan en especial el hígado y el intestino (véase la Figura 26-3). La infección por *S. mansoni* en humanos se extiende en la población de algunas áreas de África y Sudamérica; se sabe que los pacientes crónicos desarrollan una esquitosomiasis intestinal leve, mientras que alrededor de 5 a 10% sufre la forma hepatoesplénica de la enfermedad, la cual podría, de forma progresiva, llevar a la muerte del hospedero. Los productos de *Schistosoma* inducen típicamente una fuerte respuesta inmunológica en el hospedero definitivo, generada en particular contra los huevos del parásito o productos de éstos. Aunque el sistema inmunológico ataca todas las formas parasitarias, se desconoce cómo la forma adulta del parásito evade o resiste el ataque inmunológico. En general, las proteínas del parásito activan una respuesta celular, mientras que los glicanos promueven una respuesta humoral.

Respuestas Th1-Th2

Algunos reportes han mostrado que la respuesta de linfocitos T $CD4^{+}$ específicos a antígenos de huevos del parásito favorecen la producción de IL-2, y la deposición de huevos parasitarios es un factor decisivo para el cambio de una respuesta inicial tipo Th1 (IL-2 e IFN-γ) hacia una respuesta tipo Th2 (IL-4 e IL-5) que predomina durante la infección.

El papel de las citocinas tipo Th1 contra Th2 en la inmunopatología de la esquistosomiasis quedó demostrada al depletar la señalización de la IL-4; con ello se observó inflamación exacerbada y la posterior muerte del hospedero. Lo anterior evidenció una función global protectora del subgrupo de linfocitos Th2 hacia el hospedero. No obstante, durante la fase crónica de la esquistosomiasis, la citocina IL-13 derivada de la respuesta Th2 contribuye al desarrollo de fibrosis hepática. En la mayoría de los pacientes, un ambiente polarizado de citocinas Th2 se asocia con la forma intestinal leve de la enfermedad, en que la fibrosis hepática no es un factor determinante. Por otro lado, se ha observado que el TNF-α contribuye de modo positivo en la inmunopatología de la infección, mientras que la IL-10 participa como un inmunorregulador y antiinflamatorio de la respuesta inmunológica.

Los linfocitos Treg, junto con los Th2 y los M2 representan elementos clave en la regulación de la patología inducida por *Schistosoma*. En específico, los M2 dependientes de IL-4 son indispensables para el desarrollo de una respuesta Th2. Se ha observado que la expresión de los marcadores de M2, como la quitinasa Ym1, RELM-α y arginasa, lo mismo que el factor de transcripción Foxp3, correlacionan de manera inversa la patología inducida en el hígado por la presencia de huevos del parásito y de los niveles de IL-17. La IL-10, ya sea en conjunto o de forma independiente de los linfocitos Treg y/o macrófagos M2, representa un fuerte estímulo regulador durante la infección por *Schistosoma*, lo cual queda demostrado por su capacidad para reducir la inmunopatología cuando se administra *in vivo*, y de manera inversa por una marcada exacerbación de la enfermedad por la disminución de los niveles de IL-10.

Entre los mecanismos de regulación de la respuesta inmunológica están los sistemas coinhibitorios que median la inhibición de la activación de linfocitos T y la producción de citocinas proinflamatorias, como es el caso de la proteína PD-1 (del inglés *Programmed Death 1*) y sus ligandos PD-L1 y PD-L2. En la esquistosomiasis se ha observado que la expresión de PD-L2 aumenta en células dendríticas CD11c+ y se asocia con una disminución en la morbilidad.

Históricamente se reporta que las infecciones por *Schistosoma* polarizan la respuesta inmunológica hacia un perfil tipo Th2. Sin embargo, en infecciones murinas, la polarización hacia Th2 parece ser la excepción que se aplica a cepas menos virulentas, por ejemplo la BL/6, pues la mayoría de las cepas analizadas desarrollaron una patología más intensa asociada con respuestas Th1 y Th17, al igual que Th2.

La inmunomodulación producida por parásitos podría ser benéfica para el humano y para el parásito, ya que cuando los parásitos helmintos evitan ser erradicados de su hospedero, al mismo tiempo lo protegen de la excesiva respuesta proinflamatoria que podría conducir a un daño en el organismo (Figura 26-5). De manera importante, la regulación negativa de la respuesta inmunológica se establece principalmente en los casos de infección crónica o en infecciones leves.

MECANISMOS DE EVASIÓN MOLECULAR

Como ya se ha mencionado, los parásitos helmintos, ya sean intestinales o tisulares, están en constante interacción con el sistema inmunológico, al generar una respuesta protectora tipo Th2 caracterizada por la producción de citocinas –por ejemplo, IL-4, IL-5,

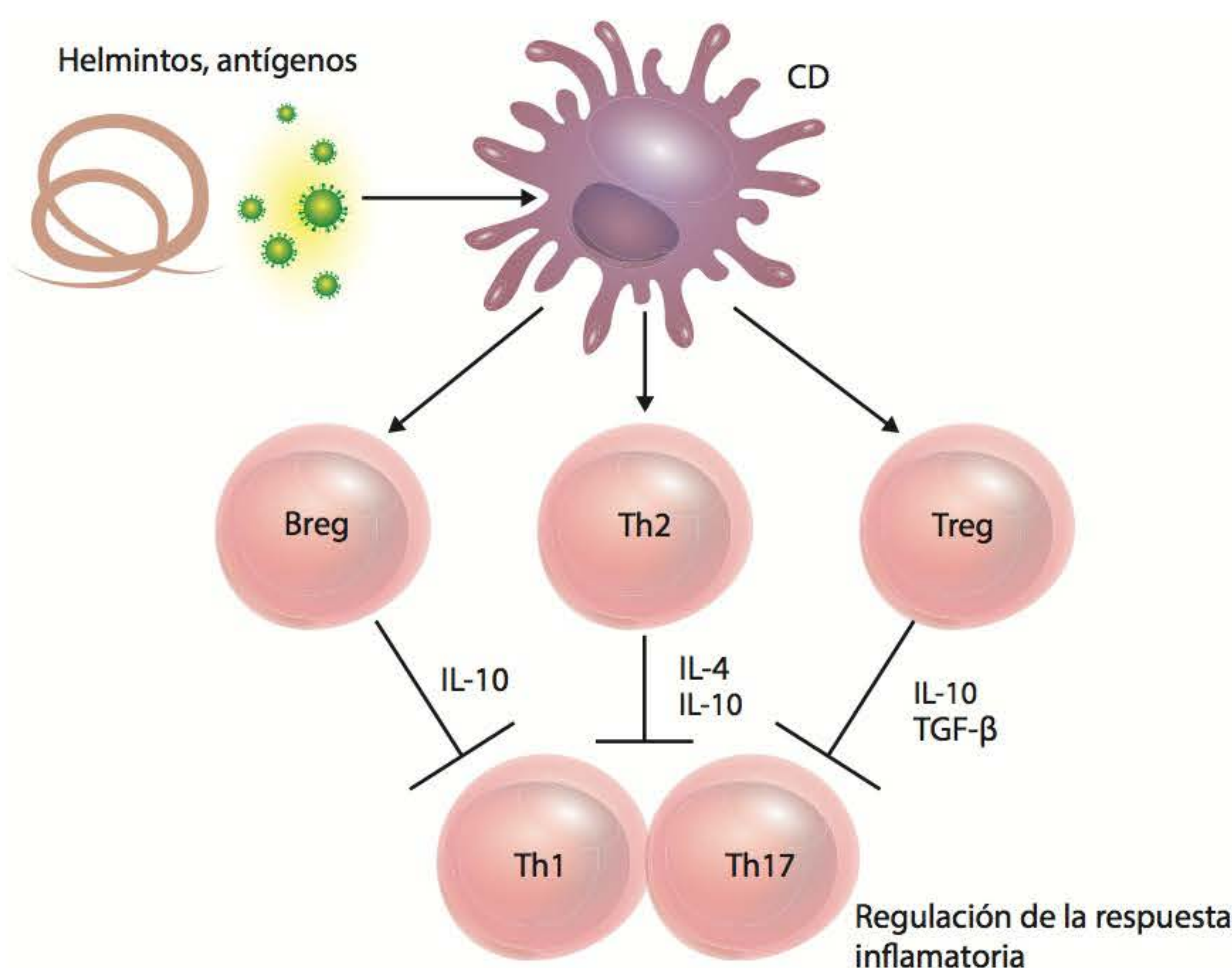


Figura 26-5. Inducción de la respuesta inmunológica en helmintos
Las proteínas antigénicas de los helmintos son procesados por las células dendríticas, las cuales pueden promover una respuesta tipo Th2 (respuesta inmunológica permisiva a la infección por nematodos), lo mismo que la inducción de linfocitos reguladores de la respuesta inmunológica, como Breg y Treg, los cuales inhiben la respuesta tipo Th1 (resistencia a la infección por nematodos).

IL-9, IL-10 e IL-13–, y en la que también participan células del sistema inmunológico –eosinófilos, basófilos y mastocitos, entre otras–. Sin embargo, estos parásitos han desarrollado estrategias inmunológicas a lo largo de la coevolución con sus hospederos que les permiten evadir o modular el sistema inmunológico y generar una respuesta inmunológica "permisiva" a la infección.

A pesar de que hay gran variedad de parásitos helmintos (nematodos, cestodos y trematodos), éstos poseen patrones generales que revelan la forma en que pueden disminuir la respuesta inmunológica al generar una respuesta Th2 modificada que puede derivar en una inmunopatología en el hospedero. Estos organismos modifican la respuesta inmunológica por medio de moléculas inmunomoduladoras solubles que ligan, degradan, secuestran o ejercen su función a través de receptores específicos en las células inmunológicas. Los antígenos E/S son de los más estudiados (Figura 26-6).

Los antígenos E/S se componen principalmente de proteasas, las cuales permiten la invasión de tejidos y la degradación de componentes del sistema inmunológico. Las enzimas glutatión-S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GTX), superóxido dismutasa (SOD) y tiorredoxina peroxidasa (TRX) permiten contender con las ROS del hospedero. Los inhibidores de proteasas, como las cistatinas y las serpinas, poseen actividad inmunomoduladora. Las enzimas glucolíticas, el MIF, las proteínas VAL, las acetilcolinesterasas y las lectinas tipo-C son algunos de los componentes más importantes identificados hasta ahora en los parásitos (Tabla 26-1).

Proteínas inmunomoduladoras: proteínas antigénicas y E/S

Los antígenos E/S de diferentes parásitos han sido estudiados con amplitud. En ensayos inmunológicos se observa que generan una respuesta tipo Th2. En trematodos, los antígenos E/S de *Schistosoma mansoni*

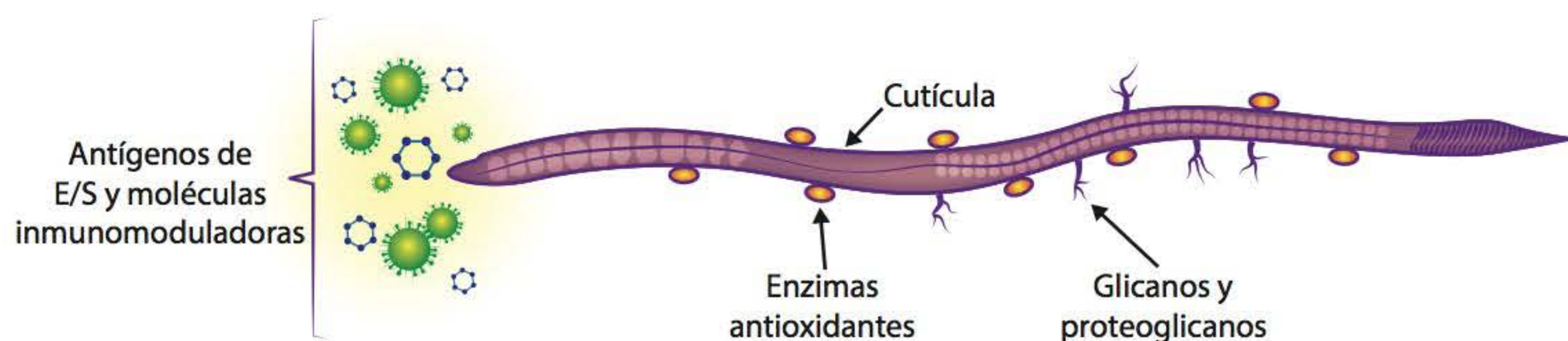


Figura 26-6. Esquematización de un parásito helminto y de las moléculas de excreción/secreción (E/S) e inmunomoduladoras que inician una respuesta inmunológica
Las proteínas más estudiadas de parásitos helmintos son los antígenos de excreción/secreción (E/S), conformados por proteasas (serinproteasas, metaloproteinasas), enzimas antioxidantes (GST, TRX), moléculas inmunomoduladoras (MIF, TGH-2), moléculas glicosidadas y componentes de cutícula del parásito (entre otros), las cuales inducen y/o modulan el sistema inmunológica del hospedero.

Tabla 26-1. Principales moléculas de excreción/secreción (ES) y mecanismos de evasión descritos en parásitos helmintos

Parásito	Estadio	Molécula	Función
Schistosoma sp.	Cercarias	Elastasas	• Degradación de fibras elásticas.
		Metaloproteasas	• Degradación de colágeno.
		Sm16/SmSLP/SmSPO-1	• Inhibe el señalamiento mediado por TLR en monocitos. • Inducción de IL1ra.
	Huevos	α-1 (IPSE)	• Inducción de IL-4. • Degranulación de basófilos.
		ω-1 (ribonucleasa)	• Induce la respuesta Th2.
		SmVAL-9	• Remodela la matriz extracelular.
	Adulto	ES-62	• Inhibición de linfocitos B2 y T $CD4^{+}$. • Induce la producción de IL-10 en linfocitos B1.
		Residuos de fosforil-colina en ES-62	• Inhibe la respuesta proinflamatoria Th1.
Brugia malayi	Adulto	Bm-MIF-1	• Citocina homóloga a MIF de mamíferos.
		Galectina-1	• Unión a leucocitos.
		LAP (laucil aminopeptidasa) homóloga a ES-62	• Inhibe la proliferación de linfocitos T CD4+.
	Adulto/microfilaria	TGH-2	• Homólogo a TGF-β en mamíferos.
	Adulto-superficie	Bm-PGX-1	• Protege la cutícula del daño de ROS. • Remueve lípidos inmunomoduladores del hospedero.
	Microfilaria	Bm-SPN-2	• Inhibe la actividad de elastasa y catepsina G de los neutrófilos.
		Bm-TRX-1	• Regula negativamente TNF-α en líneas celulares.
	L3	Bm-CPI-1	• Inhibe la presentación de antígeno en el contexto molecular del MHC II. • Induce la secreción de IL-10.
Nippostrongylus brasiliensis	Adulto	NES	• Inducción de Th2 dominante. • Activación de macrófagos alternativamente activados. • Inhibición de IFN-γ.
	L3	NES	• Inhibe el reclutamiento de neutrófilos mediado por LPS.
Heligmosomoides polygyrus	Adulto-superficie	VAL-2	• Inducción de anticuerpos IgM.
	Adulto	HES	• Proliferación de linfocitos T.
		TGF-β homólogo	• Inducción de Treg.
	L4	HpCRT (calreticulina)	• Inducción sesgada de Th2. • Producción de anticuerpos IgG1.

(*Continúa*)

Tabla 26-1. Principales moléculas de excreción/secreción (ES) y mecanismos de evasión descritos en parásitos helmintos *(Continuación)*

Parásito	Estadio	Molécula	Función
Ancylostoma caninum	Adulto-larva L3	VAL	• Anticoagulantes y digestión del contenido sanguíneo.
		ES	• Reduce inflamación intestinal.
Necator americanus	Adulto	ES	• Unión a NKs e inducción de IFN-γ.
	L3	Na-ASP-2 (*Ancylostoma* Secreted Protein-2)	• Induce quimiotaxis en neutrófilos.
Toxocara canis	Larva	TES-70	• Inhibe la migración de células del sistema inmunológico.
Trichinella spiralis	L1	TSL-1	• Activación directa de los mastocitos.
		ES-L1	• Induce la producción de IL-4, IL-10, TGF-β y el decremento de IFN-γ e IL-17. • Genera incremento de Treg.
Taenia sp.	Cisticerco	Metaloaminopeptidasa	• Degrada IL-2.
		Endopeptidasa	• Degrada IgG.
	Larva	ES	• Suprime la respuesta Th1. • Induce una marcada respuesta Th2.
Echinococcus sp.	Quiste hidatídico	AgB	• Inhibe el reclutamiento de neutrófilos. • Induce la producción de IL-4, IL-10 e IL-13 e inhibe IFN-γ.
	Quiste	Eg2HSP70	• Induce la producción de IL-4. • Inhibe la quimiotaxis de células del sistema inmunológico.
	Quiste-tegumento	EgTeg	

secretados durante su estadio en la piel (cercarias) generan una respuesta tipo Th2 mediada por activación de células dendríticas. Entre las proteínas observadas se encuentran varias isoformas de elastasas y metaloproteasas, enzimas glicolíticas (como la triosa fosfato isomerasa, GADPH, aldolasa y enolasa), proteínas VAL y el inmunomodulador Sm-16 (inhibidor del señalamiento de receptores tipo Toll en monocitos). Esta compleja mezcla enzimática facilita la penetración por la piel y la degradación de la IgE.

Entre los antígenos E/S más destacados están las proteínas α-1 y ω-1. La α-1 es una proteína dimérica secretada por los huevos de esquistosoma que induce la liberación de IL-4 o IPSE (del inglés *Interleukin-4-Inducing Principle from Schistosome Eggs*) e induce degranulación de basófilos que inician la respuesta Th2. La α-1 se une a la IgE de basófilos y actúa como quimiocina, que secuestra ligandos del reclutamiento de neutrófilos implicados en la inflamación. Cabe resaltar que al neutralizar IPSE se induce la inflamación, lo que implica que esta proteína funciona como moduladora de una respuesta granulomatosa. Por otro lado, la ω-1, una ribonucleasa, participa estimulando la respuesta inmunológica necesaria en el tránsito de los huevos de esquistosoma a través de los tejidos y también puede estimular una respuesta tipo Th2. Hace poco se describió que la VAL-9 remodela/reorganiza la matriz extracelular para la translocación de los huevos al tejido por medio de los cambios en la expresión génica de la matriz extracelular, de MMP y de los inhibidores de metaloproteinasa de tejido TIMP.

La proteína ES-62, una leucin-aminopeptidasa de excreción/secreción con residuos de fosforilcolina, inhibe la proliferación de linfocitos B2 y Th, incluidos aquellos que producen IL-4 e IFN-γ, y

promueve la producción de IL-10 por linfocitos B1. La interacción de los residuos de fosforilcolina de ES-62 con los TLR inhibe la respuesta proinflamatoria Th1. La *Fasciola hepática* secreta una gran variedad de productos antigénicos E/S como tiorredoxina peroxidasa, la cual aumenta la población de macrófagos M2 y de gran variedad de enzimas antioxidantes.

En el caso de los nematodos como *Brugia malayi*, los antígenos E/S impiden la activación de linfocitos T mediada por antígeno, por lo que en general se considera que los antígenos E/S presentan actividad inmunosupresora. Entre las moléculas inmunomoduladoras descritas de este parásito se encuentra Bm-MIF-1, homóloga a la MIF de mamíferos, considerada proinflamatoria e importante en el choque séptico. En ensayos *in vitro*, esta citocina de origen parasitario sinergiza con IL-4 e induce la activación de M2. Lo anterior favorece el establecimiento de un microambiente tipo Th2; de este modo previene la activación clásica de los macrófagos. Otras proteínas presentes en los antígenos E/S provenientes de *Brugia malayi* son una galectina (Bm-GAL-1) con capacidad de unión a los leucocitos; una leucin-aminopeptidasa (LAP) con residuos de fosforilcolina; una proteína homóloga a VAL, y la serpina Bm-SPN-2, con función inhibidora de la serina proteasa, implicada en la inhibición de la elastasa y catepsina G de neutrófilos. La Bm-SPN-2 puede inducir por sí misma una respuesta tipo Th1. Los antígenos E/S son secretados de manera diferencial según el estadio del parásito *Brugia malayi*, el cual se relaciona con su localización. Por ejemplo, en ensayos *in vitro*, TGH-2, un homólogo de TGF-β de mamíferos, es secretado principalmente por el estadio de microfilaria y puede unirse a los receptores de TGF-β para promover la aparición de células Treg. Sin embargo, su secreción es tan baja en infecciones que aún se desconoce si puede promover alguna actividad a este nivel. Una de las principales proteínas asociadas a la superficie del adulto de *B. malayi* es una glutatión peroxidasa (Bm-GPX-1), la cual presenta dos funciones: protege la región lipídica de la cutícula del ataque de las ROS y modifica o remueve los lípidos inmunomoduladores del hospedero. Por otro lado, este parásito tiene tres genes que codifican para TRX: Bm-Trx-1, -2 y -3; hasta ahora sólo se ha demostrado que Bm-TRX-1 es capaz de proteger el DNA del parásito del daño que provocan las ROS generadas por las células inmunológicas del hospedero.

Las cistatinas CPI, que son proteínas inhibidoras de cisteín proteasas, se han encontrado en *B. malayi* (Bm-CPI-1 y Bm-CPI-2), en *Nippostrongylus brasiliensis* y en *Onchocerca volvulus*, y tienen la capacidad de modular la respuesta inmunológica mediante dos mecanismos. El primero de éstos inhibe las proteasas implicadas en el procesamiento antigénico y su posterior presentación en el contexto molecular del MHC II, y el segundo induce la secreción de IL-10, la cual regula de modo negativo la expresión de moléculas coestimuladoras en las APC y reduce la proliferación de linfocitos T.

En modelos murinos a los que se administran antígenos E/S provenientes de *Nippostrongylus brasiliensis*, se observa un considerable incremento en la concentración de IL-4 y la activación de macrófagos M2, lo que se traduce en una fuerte respuesta tipo Th2, aun en presencia de una respuesta inducida tipo Th1/Th17. Aunado a lo anterior, se ha observado que los antígenos E/S pueden evitar la aparición de una respuesta proinflamatoria tipo Th1, mediante la inhibición de la producción de IFN-γ dependiente de mitógeno por células de nódulos linfáticos mesentéricos y de la producción de IL-12p70 por células dendríticas. Este último proceso parece ser una estrategia generalizada presente en todos los antígenos E/S de los helmintos. Inclusive los antígenos E/S provenientes de *Nippostrongylus brasiliensis* son capaces de evitar la patología inherente a la respuesta tipo Th2, por ejemplo, al evadir la inflamación pulmonar por alérgenos. Otro antígeno E/S de *Nippostrongylus brasiliensis* es ASP-2, considerada una proteína similar a VAL, la cual posee una reminiscencia de las citocinas de mamífero y se cree que puede ser un ligando o un antagonista de receptores de quimiocinas; no obstante, en experimentos *in vitro* e *in vivo* se ha observado que ASP-2 induce quimiotaxis de neutrófilos.

Los antígenos E/S de las uncinarias, como *Necator americanus* y *Ancylostoma* spp., incluyen las VAL, las proteasas con capacidad anticoagulante, la proteína que une retinol/ácido graso y un inhibidor de metaloproteasa, que se unen a las células NK y promueven la producción de IFN-γ. Asimismo, entre los antígenos E/S existen proteínas inmunomoduladoras debido a que reducen la inflamación intestinal por la administración de ácido trinitrobenceno sulfónico.

Los antígenos E/S de *Heligmosomoides polygyrus* –un parásito nematodo natural de ratones– presentan propiedades inmunosupresoras. Se ha reportado que estos antígenos E/S pueden inducir la proliferación de linfocitos T, lo mismo que la producción de NO en macrófagos. En ensayos *in vitro* con células dendríticas, se ha observado que la exposición a antígenos E/S de *Heligmosomoides polygyrus* elimina la respuesta mediada por IL-12p70 por medio de agonistas de TLR, como los lipopolisacáridos, e induce la diferenciación hacia células Treg productoras de IL-10, la cual a su vez induce una regulación negativa de la proliferación de linfocitos T. Otros componentes reportados

en antígenos E/S de *Heligmosomoides polygyrus* son la calreticulina (Hp-CRT) –descrita en otras especies de helmintos y secretada en la larva invasiva L4–, la cual induce una respuesta polarizada tipo Th2, aunque también inducen la formación de anticuerpos IgG1 e IgE. Una proteína similar a la TGF-β secretada por este parásito induce en forma directa la expresión de Foxp3$^+$ en linfocitos T activados, lo que implica un mecanismo de evasión del sistema inmunológico. En este mismo sentido, se han descrito proteínas homólogas a VAL en la superficie del parásito adulto, que inducen la producción de anticuerpos IgM, aunque se desconoce su función.

En nematodos como la *Toxocara canis*, los antígenos E/S contienen proteínas glicosiladas que estimulan la respuesta tipo 2, los mismo que lectinas tipo-C, abundantes en este parásito. Dos C-TL –TES-32 y TES-70– tienen homología con el receptor IgE de baja afinidad y con el de manosa. Cabe señalar que TES-70 une carbohidratos del hospedero, lo que sugiere su participación en mecanismos de evasión de la respuesta inmunológica. Las mucinas y proteínas similares a los grupos sanguíneos H en mamíferos, los cuales son blanco para IgM, también se encuentran presentes en los antígenos E/S provenientes de *Toxocara canis*. En el caso de *Trichinella spiralis*, los antígenos E/S contienen nucleotidasa MIF, un nucleósido difosfato cinasa y gran variedad de cinasas y proteasas. En particular, la larva muscular (LM) de *T. spiralis* presenta diversos antígenos denominados TSL-1, los cuales se han dividido en ocho grupos. El grupo más estudiado son los TSL-1, los cuales pueden activar mastocitos de manera IgE independiente y promover la liberación de diversos secretagogos, entre éstos defensinas, anafilotoxinas (C3a y C5a), compuesto 48/80, sustancia P e histamina, y también la IL-4 que promueve una respuesta tipo Th2. Esta característica de los TSL-1 puede deberse a los carbohidratos que portan dichos antígenos, en particular la tivelosa, que es específica de este género y hacia la cual se concentra la producción de anticuerpos. Dada la intensa respuesta inmunológica que generan estos antígenos, se han utilizado como posibles vacunas y métodos diagnósticos. Recientemente se ha demostrado que la administración de antígenos E/S de la larva muscular (ES-L1) estimula células dendríticas con la producción de IL-4, IL-10, TGF-β, y el decremento de IFN-γ e IL-17. Además, se ha observado un incremento de la población de linfocitos Treg CD4$^+$CD25$^+$Foxp3$^+$ lo que promueve una respuesta regulatoria y antiinflamatoria propicia para el establecimiento del parásito.

Taenia sp. y *Echinococcus* sp., dos especies de trematodos que se localizan en la cavidad peritoneal, excretan proteínas que suprimen la respuesta de linfocitos Th1. Los antígenos E/S provenientes del cisticerco de *Taenia crassiceps* exhiben propiedades inmunorreguladoras en el reclutamiento de basófilos y eosinófilos: inhibición de la maduración de células dendríticas, activación de los macrófagos M2 e inducción de Treg. Dentro de los antígenos E/S de *Taenia crassiceps* se ha reportado una metalo-amino-peptidasa que degrada IL-2 –la cual es crucial para el factor de crecimiento de linfocitos T al impedir el desarrollo de una respuesta Th1–, y una endopeptidasa que es capaz de degradar anticuerpos de clase IgG, lo que media la evasión de la respuesta inmunológica y genera una posible fuente de aminoácidos para el parásito. En los quistes hidatídicos de *Echinococcus*, se han descrito antígenos E/S inductores de Th2 e inhibidores de la migración de neutrófilos. Una de las principales moléculas inmunomoduladoras secretadas del fluido hidatídico es el antígeno B (EgAgB), una lipoproteína termoestable de 160 kDa que actúa directamente en la inmunidad innata y adquirida del hospedero, pues presenta una actividad de serpina con capacidad de inhibir el reclutamiento de neutrófilos. Asimismo, induce la producción de IL-4, IL-10 e IL-13, la baja producción de IFN-γ, pero no induce IL-12p70, lo que en su conjunto se traduce en la inducción de una respuesta tipo Th2. La proteína de choque térmico EgHSP70 y la EgTeg perteneciente al tegumento del quiste poseen características similares a EgAgB, ya que inducen la producción de IL-4, IgG4 e inhiben la quimiotaxis de células de la respuesta inmunológica innata.

En conclusión, la evasión y regulación de la respuesta inmunológica del hospedero es una estrategia extendida en todos los parásitos. Así, los antígenos de E/S y las proteínas inmunomoduladoras promueven una respuesta inmunológica que se asemeja a la tipo Th2, dada por la clase de células mieloides y linfoides y las citocinas presentes en el microambiente del hospedero. Esta respuesta no elimina el parásito y resulta permisiva para el establecimiento, la reproducción y la supervivencia del mismo (véase la Figura 26-4).

Aplicaciones clínicas de nuevos antiparasitarios

Las helmintiasis se encuentran entre los padecimientos más antiguos de la humanidad. Poco ha cambiado en nuestros días y los casos han aumentado en proporción directa con el crecimiento de

la población mundial. Las helmintiasis transmitidas por geohelmintos representan las enfermedades menos atendidas de mayor prevalencia en áreas tropicales y subtropicales con poca o nula higiene. Entre las principales especies que infectan al humano están los nematodos *Ascaris lumbricoides*, *Trichura trichiura*, *Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*, que causan diarrea y disminuyen la capacidad de absorción del tracto gastrointestinal. En el caso de *N. americanus* y *A. duodenale* también provocan anemia. En el sector veterinario las infecciones por nematodos gastrointestinales como *Teladorsagia circumcincta*, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus vitrinus* y *Trichostrongylus colubriformis* causan pérdidas económicas cuantiosas, y en algunas ocasiones provocan la muerte de los animales. Otras helmintiasis son zoonosis que afectan al ser humano, entre éstas cisticercosis, fasciolosis, toxocariosis y triquinelosis.

En la actualidad, la alternativa para el control de las helmintiasis es el tratamiento quimioterapéutico, por lo que se realizan campañas de desparasitación nacional según lo recomienda la OMS. La quimioterapia sigue siendo el método más económico y eficaz para controlar las helmintiasis. Sin embargo, el uso indiscriminado y prolongado de fármacos antihelmínticos comienza a generar parásitos resistentes a dichos fármacos.

Quimioterapia de las helmintiasis

Fármacos nematicidas

Bencimidazoles

Los bencimidazoles son fármacos que inhiben la polimerización de los microtúbulos citoplasmáticos mediante la unión selectiva y altamente afín a la β-tubulina de las células tegumentarias e intestinales de nematodos, interfiriendo de esta forma en procesos celulares clave como el tráfico vesicular intracelular, lo mismo que el movimiento de los cromosomas durante la división celular. También inhiben la incorporación de glucosa e interfieren el transporte transmembranal de glucosa exógena –con lo que alteran mucho el gradiente de protones–, e interfieren la producción de ATP –que es indispensable para llevar a cabo las funciones vitales de los parásitos–, lo que les provoca la muerte.

Los bencimidazoles son los antihelmínticos por excelencia. Se dividen en bencimidazoles tiazoles (tiabendazol); metilcarbamatos (mebendazol, albendazol, albendazol sulfóxido, oxibendazol, fenbendazol, oxfendazol); tioles halogenados (triclabendazol), y probenzoimidazoles (Febantel, Netobimina). Los probenzimidazoles deben ser metabolizados por el hígado para transformarse en albendazol y fenbendazol. Este último es exclusivo para uso veterinario. En la Tabla 26-2 se presentan los fármacos más empleados con actividad antihelmíntica.

La introducción del tiabendazol como primer antihelmíntico bencimidazólico se hizo alrededor de 1960, seguida del albendazol y el mebendazol, que entre los bencimidazol carbamatos son los más empleados. El tiabendazol dejó de producirse para su uso en humanos debido a que provocaba reacciones secundarias intensas, entre éstas vértigo, hipotensión, bradicardia, urticaria, mareos y dolor de cabeza. Además, la vida media de este fármaco dentro del hospedero era corta debido a su rápida hidroxilación en el hígado. El mebendazol tiene un espectro de acción similar al tiabendazol y, además de ser activo contra nematodos, también es cestocida. A diferencia del tiabendazol, el mebendazol no es bien absorbido en la luz intestinal, por lo que su efectividad radica en las altas concentraciones del fármaco en los organismos adultos que habitan en la lámina propia del duodeno. El albendazol tiene un espectro un poco más amplio que el mebendazol; sin embargo, el efecto del albendazol a nivel sistémico es reducido debido a su baja solubilidad acuosa, por lo que se absorbe poco (<5%), lo que ocasiona baja biodisponibilidad. El albendazol y el mebendazol para uso humano se administran de manera periódica en dosis únicas de 400 mg y 500 mg, respectivamente. Estos dos fármacos son muy utilizados en el campo veterinario. No obstante, una limitante del uso del albendazol y mebendazol como nematocidas y cestocidas a nivel extraintestinal es su baja biodisponibilidad, razón por la que se requiere su administración a dosis altas y por tiempo prolongado, lo que causa anemia y daño al hígado. Con la finalidad de incrementar su solubilidad acuosa, y con esto su biodisponibilidad, y administrar dosis menores, se han empleado de manera experimental polímeros de bajo peso molecular –como la hidroxipropil metilcelulosa sustituida (L-HPC)– que permiten la formación de micropartículas de los fármacos con muy baja agregación, lo que aumenta la disolución de éstos. En el caso del mebendazol, se demostró que la administración oral de partículas redispersables que contienen el fármaco y L-HPC tuvo mayor biodisponibilidad que el mebendazol puro. Además, al evaluar la actividad antihelmíntica de 5 mg de mebendazol contenido en estas micropartículas, se encontró que la reducción de la carga parasitaria de larvas musculares de *T. spiralis* en un modelo de ratón fue alrededor de cinco veces más eficiente con respecto al mebendazol puro. Otros estudios han demostrado que los

Tabla 26-2. Antihelmínticos más empleados, eficacia y fecha de introducción

Denominación	Clase química	Eficacia	Introducción
FÁRMACOS DE USO EN HUMANOS			
Albendazol	Benzimidazol	Nematicida, cestocida	1970-1980
Ivermectina	Lactona macrocíclica	Nematocidam filaricida	1980-1990
Levamisol	Imidazotiazol	Nematicida	1960-1970
Mebendazol	Benzimidazol	Nematicida	1970-1980
Niclosamida	Salicilanilida	Cestodicida	1960-1970
Praziquantel	Der. isoquinolínico	Cestodicida	1970-1980
Tiabendazol	Benzimidazol	Nematicida	1960-1970
Triclabendazol	Benzimidazol	Fasciolicida	1970-1980
FÁRMACOS DE USO EN VETERINARIO			
Closantel	Salicilanilida	Antihelmíntico	1970-1980
Febantel	Probenzimidazol	Nematicida	1970-1980
Fenbendazol	Benzimidazol	Nematicida	1970-1980
Monepantel	Derivado amino-acetonitrílico	Nematicida	2000-2010
Moxidectina	Lactona macrocílica	Nematicida	1990-2000
Oxfendazol	Benzimidazol	Nematocida	1970-1980

derivados bencimidazólicos a bajas dosis en complejo con ciclodextrinas también incrementan la eficacia antiparasitaria contra la fase sistémica de *T. spiralis*. Estos enfoques son una forma efectiva de incrementar la biodisponibilidad y actividad terapéutica de compuestos bencimidazólicos como el mebendazol y el albendazol empleando dosis bajas, de modo que se disminuye la toxicidad para el humano. Estas estrategias pueden ser empleadas para una administración de dosis bajas de fármacos con poca solubilidad en agua en el tratamiento de helmintiasis sistémicas.

Levamisol

El levamisol es un derivado imidatiazol introducido en el mercado a principios de la década de 1970, que se utiliza como nematocida. Este fármaco es un agonista colinérgico que despolariza los nervios del parásito, lo que causa la rápida y sostenida contracción del músculo y parálisis espástica del parásito. También se ha demostrado que produce la inhibición de la enzima fumarato reductasa y la oxidación del ácido succínico parasitario, con lo cual se bloquea el metabolismo de carbohidratos. El levamisol no posee efectos sobre trematodos y cestodos; actúa sobre la fase adulta de nematodos y posee actividad microfilaricida.

Lactonas macrocíclicas

Las lactonas macrocíclicas actúan sobre los receptores GABA de las células del sistema nervioso al bloquear la transmisión del impulso nervioso, lo que conduce a la parálisis y muerte del parásito o a su expulsión del cuerpo del hospedero. También afecta la reproducción de algunos parásitos porque disminuye la ovoposición. Estudios de la eficacia de diferentes antihelmínticos en granjas de países como Francia, Grecia e Italia demostraron que la administración de moxidectina e ivermectina a una dosis de 0.2mg/kg de peso presenta alta eficiencia (98-100%) en el tratamiento de parásitos nematodos, mientras que albendazol y levamisol tuvieron bajas eficacias (58 y 87%, respectivamente).

Ivermectina

La ivermectina es la elección para el tratamiento de la oncocercosis. Este fármaco mata las microfilarias en la piel y suprime la producción de microfilarias de los organismos de hembras adultas fértiles por un periodo de hasta seis meses. Tal tratamiento no sólo previene las manifestaciones graves de la piel o la enfermedad ocular en las personas infectadas, sino que también es un tratamiento muy efectivo desde el punto de vista económico y de salud pública.

Moxidectina

La moxidectina es un fármaco que se obtiene de *Streptomyces cyaneogriseus*, y es efectivo contra nematodos intestinales del ganado (*Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp.) y el nematodo pulmonar *Dictyocaulus* spp. La moxidectina no es efectiva contra cestodos y trematodos. Después de su administración, la moxidectina se absorbe en la sangre y se distribuye en todo el cuerpo. Las mayores concentraciones del fármaco se encuentran en el tejido adiposo, que sirve como depósito, y se liberan de manera progresiva en la sangre. La moxidectina es más lipofílica que la ivermectina, por lo que su uso genera una protección más prolongada contra los parásitos. Este fármaco sólo es empleado para uso veterinario.

Trematicidas

El triclabendazol es el único fármaco recomendado por la OMS para el tratamiento de la fascioliasis, causada por el trematodo *Fasciola hepática*. Es activo contra el parásito inmaduro y contra el adulto, y puede emplearse durante la fase aguda y crónica de la enfermedad. También se utiliza contra infecciones por el trematodo *Paragonimus mexicanus*. El régimen recomendado es de 10 mg/kg de peso administrado en dosis única. Si el tratamiento falla se debe incrementar la dosis a 20 mg/kg de peso en dos dosis divididas administradas con un intervalo de 12 a 24 horas. El triclabendazol también se usa para el tratamiento de la fasciolaisis en bovinos y ovinos.

Taenicidas y cesticidas

Niclosamida y praziquantel

En el tratamiento de la taeniasis se usan dos fármacos, niclosamida y praziquantel. La niclosamida es de los pocos fármacos que, aunado a los bencimidazoles, tiene actividad taenicida, y es de uso humano y también veterinario. Se administra en dosis única de acuerdo con la edad del paciente: en adultos y niños mayores de seis años se administran 2 g, en tanto que 1 g a niños de dos a seis años, y 500 mg a niños menores de dos años. Después de la administración oral, la niclosamida se absorbe pobremente al torrente sanguíneo, se metaboliza con rapidez y es excretada. Este fármaco desacopla la fosforilación oxidativa en la mitocondria, con lo que afecta la producción de ATP y, por tanto, la motilidad del parásito. Además, la niclosamida actúa inhibiendo la absorción de glucosa por el parásito.

El praziquantel pertenece a la clase de las isoquinolinas y es un efectivo taenicida. Este fármaco también es efectivo contra los adultos de cestodos de los géneros *Echinococcus*, *Mesocestoides*, *Moniezia*, *Avitellina*, *Stilesia*, así como contra trematodos de género *Eurytrema* y *Schistosoma*. Tiene uso humano y veterinario, en especial en animales domésticos, pero se aplica en combinación con bencimidazoles. Se emplea en dosis única de 40 mg/kg de peso, pero las infestaciones intensas requieren 60 mg/kg en tres dosis divididas en intervalos de cuatro a seis horas. También se usa en el tratamiento de la cisticercosis, aunque debe administrarse por periodos prolongados y junto con una terapia con corticoides y/o antiepilépticos. El mecanismo de acción del praziquantel observado en *Schistosoma* está relacionado con cambios en la permeabilidad de Ca^{2+} en la membrana muscular del parásito; en consecuenci,a los parásitos se paralizan y mueren. En taenias, el praziquantel parece afectar el metabolismo de carbohidratos y daña el tegumento del parásito.

Resistencia a los antihelmínticos

Los bencimidazoles han sido muy utilizados tanto en medicina humana como en veterinaria gracias a su amplio espectro antiparasitario, baja toxicidad hacia el hospedero y bajo costo. Sin embargo, su uso indiscriminado ha propiciado el surgimiento de parásitos resistentes a estos fármacos, ya que en cada tratamiento sobrevive un porcentaje pequeño de parásitos. Luego de varias desparasitaciones, la población de parásitos resistentes al bencimidazol utilizado se hace dominante. La falla terapéutica se ha observado en humanos, aunque la presencia de helmintos resistentes a bencimidazoles se detectó en rumiantes de modo considerable desde 1960.

En México, Campos y colaboradores reportaron la presencia de las primeras poblaciones de nematodos resistentes a los bencimidazoles en ovinos infectados con el nematodo hematófago *Haemonchus contortus*. Dos años después se hallaron tres nuevas poblaciones de nematodos resistentes al albendazol, febendazol, febantel y oxfendazol en borregos.

En Reino Unido, Grecia, Irlanda del Norte, Noruega, Francia y España se ha reportado que el nivel de resistencia a los bencimidazoles es alto. Además, la resistencia a levamisol e ivermectina se documentó en Reino Unido, lo mismo que en otros países europeos. Estudios a gran escala han puesto de manifiesto que la situación es crítica en países de América Latina y África del Sur, y también en Australia y Nueva Zelanda. Se han reportado varios casos de

resistencia antihelmíntica a un solo fármaco o a múltiples fármacos.

Según se ha demostrado, la principal causa de resistencia a los bencimidazoles son cambios en la secuencia de aminoácidos en los dominios N-terminal e intermedio de la β-tubulina, lo que conlleva a la pérdida de la afinidad de los bencimidazoles por la tubulina de los parásitos. Las sustituciones más comunes son fenilalanina por tirosina en posición 167 (F167Y), glutamato por alanina en posición 198 (E198A) y fenilalanina por tirosina en posición 200 (F200Y). En términos estructurales, el cambio en esos aminoácidos impide la formación de complejos estables β-tubulina-bencimidazol, ya sea porque la sustitución de residuos (F200Y) da lugar a la formación de nuevas interacciones intracatenarias entre diferentes regiones del polipéptido de la tubulina e impide la interacción de la tubulina con el bencimidazol, o porque los nuevos residuos impiden la formación de puentes de hidrógeno que estabilizan los bencimidazoles dentro de las tubulinas.

La resistencia a bencimidazoles también parece estar asociada con cambios en el gen de la glicoproteína P, el cual participa en la resistencia a ivermectina, que es un fármaco muy utilizado en el tratamiento de filariasis.

En el campo veterinario, la resistencia en nematodos gastrointestinales es alarmante. Algunos casos han cobrado gran importancia, como el de *H. contortus* que afecta la ganadería en Australia, Nueva Zelanda, Gran Bretaña, Sudáfrica y más recientemente en Sudamérica.

Manejo de resistencia a antihelmínticos

En la actualidad se emplean combinaciones de dos o más antihelmínticos con el objetivo de manejar la resistencia de nematodos y ampliar el espectro de eficacia terapéutica. La combinación de antihelmínticos con un espectro de actividad nematocida se usa en particular cuando existe falla terapéutica documentada. Entre las combinaciones utilizadas se encuentra la mezcla de levamisol, albendazol e ivermectina. El propósito de esta combinación se basa en el diferente mecanismo de acción de cada fármaco, que contribuye a la eficacia contra los parásitos resistentes. A este respecto, es importante estudiar la interacción farmacológica de los antihelmínticos empleados para obtener el efecto esperado. En el caso de la ivermectina, ésta ha sido usada de modo indiscriminado y la presión selectiva a la que se ha sometido a los helmintos ha resultado en la resistencia al fármaco. En las poblaciones de helmintos resistentes a la ivermectina hay un incremento en las proteínas de membrana responsables de la salida de fármacos, como la glicoproteína P (gpP). La coadministración de ivermectina y agentes moduladores de la gpP ha probado un incremento en la eficacia del fármaco y una disminución en la concentración efectiva 50 en el tratamiento de algunas helmintiasis.

La evidencia etnomédica muestra el uso ancestral de plantas como antihelmínticos. Con el objetivo de disponer de alternativas naturales para el tratamiento de las diferentes helmintiasis, se evalúan extractos del tallo, fruto, flor o raíces de algunas plantas. Por ejemplo, la acción de extractos totales de piña, papaya e higo contra nematodos intestinales ha sido evaluada en forma sistemática y se confirmó que su actividad antiparasitaria está mediada por proteinasas de tipo cisteína (CP). Sin embargo, el efecto cestocida de las CP ha sido poco estudiado, a pesar de que existen evidencias del uso específico de extractos de helecho en polvo por los griegos desde los años 350-250 a.C. Hace poco se comprobó que las CP obtenidas de sobrenadantes del látex de la planta de la papaya contienen quimopapaína, glicil endopeptidasa, caricaína y papaína, y la bromelina del fruto y el tallo de la piña tienen actividad *in vitro* contra dos tipos de cestodos de roedores: *Hymenolepis diminuta* e *Hymenolepis microstoma*. La reducción en la motilidad, que lleva por último a la muerte del parásito, fue dosis-dependiente. Las CP atacan el tegumento del parásito, lo que origina una erosión generalizada principalmente en el estróbilo. El escólex fue más resistente al ataque de las CP. La CP más efectiva fue la bromelina del fruto de la piña, la menos efectiva fue la bromelina del tallo de la piña y los sobrenadantes del látex de la papaya tuvieron actividades intermedias. De acuerdo con lo anterior, las plantas pueden ser una fuente natural importante de fitofármacos con actividad antihelmíntica, pero se requiere una evaluación rigurosa y la confirmación del compuesto activo.

Uso de parásitos helmintos como nuevos tratamientos

En 1989, David Strachan propuso la "hipótesis de la higiene", según la cual el decremento en la incidencia de infecciones con parásitos y bacterias en los países desarrollados podría ser la causa del desarrollo de enfermedades alérgicas y autoinmunes, debido a una pérdida en la regulación de la respuesta inmunológica.

Este postulado puede interpretarse desde el punto de vista de que los parásitos helmintos han evolucionado para inmunomodular la respuesta inmunológica del hospedero, que conlleva prevenir procesos inflamatorios que causen la propia muerte del parásito, ya sea de manera directa o por la muerte del hospedero. Las infecciones por helmintos inducen una respuesta tipo Th2 caracterizada por los altos niveles de citocinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IL-21 e IL-33 y también de IgE, así como por la producción de eosinófilos y células cebadas, además de linfocitos Th2, linfocitos Treg, linfocitos Breg, macrófagos M2 y células dendríticas. De esta forma los eventos orquestados por la respuesta Th2 pueden modular a la baja a la respuesta mediada por linfocitos tipo Th1, que puede hacer a los individuos infectados menos susceptibles a enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Diversos estudios epidemiológicos apoyan la "hipótesis de la higiene", así como una gran cantidad de estudios en modelos murinos, en los que se ha demostrado que las infecciones con los helmintos –entre otros *Trichuris suis*, *T. spiralis*, *Necator americanus*, *Schistosoma mansoni*, *Heligmosomoides polygyrus* e *Hymenolepis diminuta*– previenen enfermedades autoinmunes como diabetes tipo 1, encefalitis autoinmune experimental, colitis experimental, lo mismo que enfermedades alérgicas. Es importante resaltar que, por lo general, los helmintos se consideran un grupo homogéneo, pero existen diferencias intraespecies y el resultado obtenido depende del modelo de enfermedad inflamatoria empleado en los estudios. Un ejemplo de lo anterior es que al administrar *H. diminuta* se observa una reducción de la gravedad de un modelo de colitis inducido con dinitrobenceno-ácido sulfónico, a pesar de que el mismo helminto exacerba la enfermedad en un modelo de colitis inducida con oxazolona.

Entre los estudios clínicos que apoyan la "hipótesis de la higiene" se encuentra el realizado con pacientes con colon irritable a quienes se les administraron huevos del nematodo *Trichuris suis*; en estos pacientes se observó una reducción en la intensidad de la dolencia. En dichos tratamientos, *T. suis* tiene una vida corta, ya que es un parásito de cerdos y no madura en el hospedero humano, por lo que se requiere tratamiento constante. La terapia helmíntica tiene un alcance tal que el uso de huevos de *T. suis* es permitido actualmente por la FDA (Food and Drug Administration) como un producto de investigación en medicina. Además, el uso de huevos de *T. suis* en el tratamiento de la enfermedad de colon irritable está en fase clínica 3, y existe gran optimismo de que represente la primera generación de una nueva clase de terapia de biológicos derivada de parásitos helmintos. Otro avance es el uso de *N. americanus* para el tratamiento de la enfermedad celiaca y de rinitis alérgica, que obtuvo una licencia otorgada por la Medicine and Healthcare Regulatory Authority como producto de investigación en Gran Bretaña.

Es importante resaltar que la infección por nematodos no es un requisito para suprimir el proceso inflamatorio. Se ha estudiado el efecto inmunomodulador de diferentes moléculas de helmintos; en la Tabla 26-3 se presentan algunos antígenos de helmintos que suprimen o reducen enfermedades inflamatorias y su mecanismo de inmunorregulación.

Tabla 26-3. Antígenos de helmintos que suprimen o reducen enfermedades inflamatorias y su mecanismo inmunorregulador

Helminto	Antígeno	Modelo	Mecanismo inmunorregulador
A. vitae	ES-62	• Artritis inducida con colágeno • Inflamación alérgica de vías aéreas • Artritis inducida con colágena	• Efecto inmunorregulador sobre macrófagos y CD por medio de un mecanismo que depende de TLR-4. • Decremento en la respuesta de IL-17.
A. suum	PAS-1	• Inflamación alérgica de vías aéreas	• Aumento de linfocitos $CD25^+ FoxP3^+$ y $CD8^+ \gamma\delta TCR^+$.
H. diminuta	Antígenos solubles del adulto	• Colitis inducida con DNBS	• Reducción de la activación de macrófagos. • Disminución en la producción de TNF-α e incremento en IL-4 e IL-10.
H. polygyrus	Antígenos de E/S	• Encefalitis autoinmune experimental • Diabetes tipo 1	• Inducción de linfocitos Treg por medio del receptor de TGF-β. • Incremento en la producción de IL-4, IL-10 e IL-13, y de células $CD4^+CD25^+FoxP3^+$.

(*Continúa*)

Tabla 26-3. Antígenos de helmintos que suprimen o reducen enfermedades inflamatorias y su mecanismo inmunorregulador *(Continuación)*

Helminto	Antígeno	Modelo	Mecanismo inmunorregulador
N. brasiliensis	Antígenos de E/S	• Inflamación de vías aéreas por alergias	• Induce respuesta Th2 vía células dendríticas.
S. mansoni	Antígenos solubles del huevo y el parásito adulto	• Diabetes tipo 1	• Interactúa con TLR4 para producir células dendríticas que polarizan respuesta Th2. • Inhibe la producción de IL-12 por células dendríticas.
T. spiralis	Antígenos de E/S de la larva muscular	• Encefalitis autoinmune experimental • Diabetes tipo 1	• Interfiere con la maduración de células dendríticas inducida por LPS. • Induce la expansión de células reguladoras de la producción de IL-10 y TGF-β.
T. suis	Antígenos solubles del parásito adulto	• Encefalitis autoinmune experimental	• Afectan el fenotipo y la función de células dendríticas activadas por medio de los TLR. • Suprimen la secreción de TNF alfa e IL-12, y el desarrollo de células Th1 y Th17.

El ES-62, producido por la filaria *Acanthocheilonema viteae* tiene un efecto inmunomodulador en macrófagos y células dendríticas, induce una polarización de la respuesta inmunológica hacia Th2 por medio de un mecanismo dependiente de TLR-4 y ha sido empleado en el tratamiento de artritis inducida con colágeno y en la protección de la inflamación de vías respiratorias. Aunado a ES-62, la administración

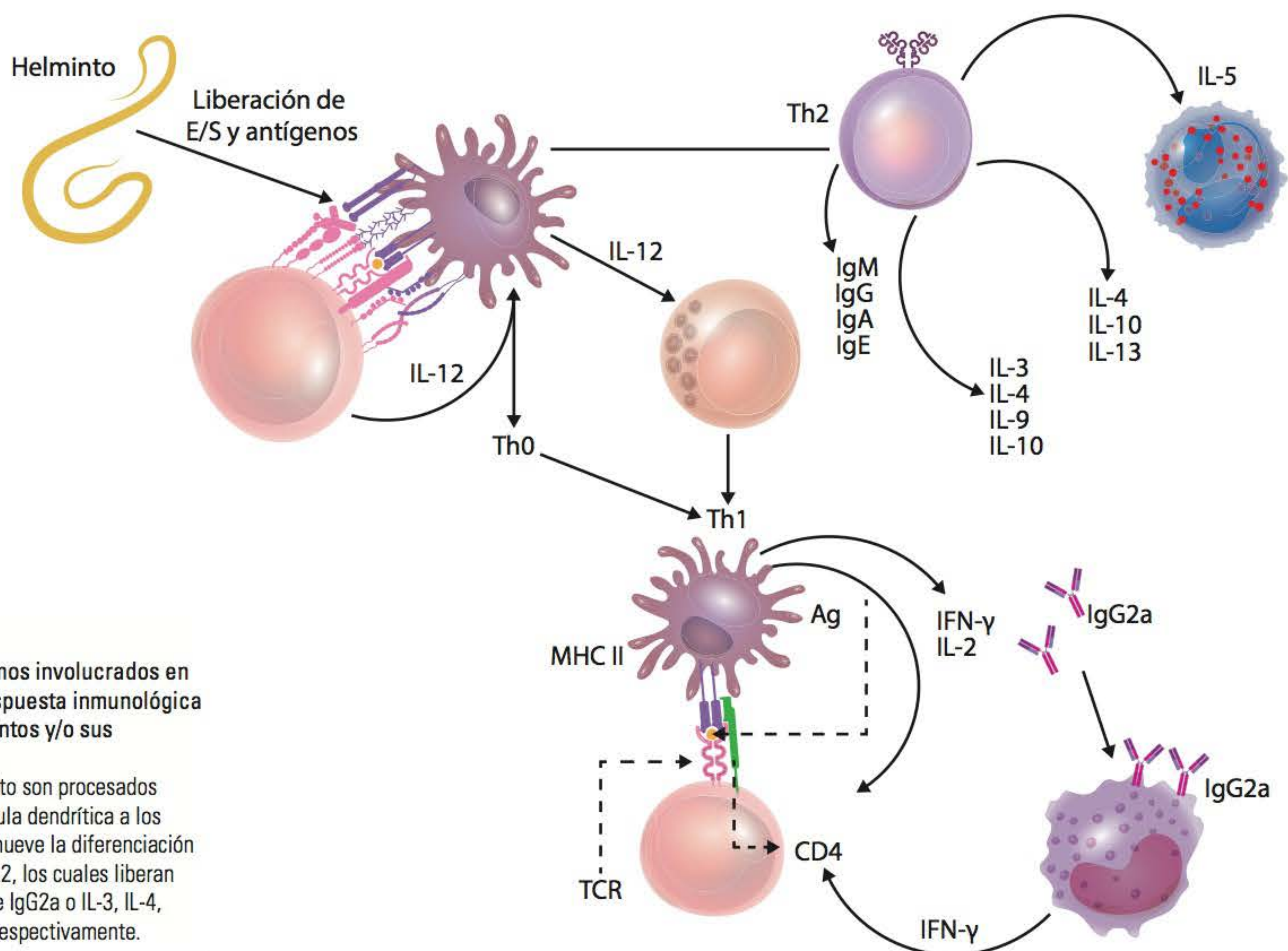


Figura 26-7. Mecanismos involucrados en la regulación de la respuesta inmunológica inflamatoria por helmintos y/o sus antígenos
Los antígenos del parásito son procesados y presentados por la célula dendrítica a los linfocitos Th0. Esto promueve la diferenciación hacia linfocitos Th1 o Th2, los cuales liberan interleucinas IL-2, IFNγ e IgG2a o IL-3, IL-4, IL-10, IL-13 e IgM, IgG, respectivamente.

de antígenos E/S *de T. suis*, *T. spiralis*, *H. diminuta*, *A. caninum*, *S. mansoni* y *A. suum*, entre otros, suprimen el desarrollo de enfermedades como encefaliomielitis autoinmune, colitis experimental, diabetes tipo 1, lo mismo que de enfermedades alérgicas. En cuanto a los antígenos E/S de *T. suis* y *T. spiralis*, se demostró que afectan el fenotipo y la función de células dendríticas de humano activadas mediante los TLR. La secreción de TNF-α e IL-12 por estas células fue suprimida, y también el desarrollo de linfocitos Th1 y Th17, importantes en el proceso inflamatorio característico de la enfermedad.

Para poder explotar el gran potencial de la terapia helmíntica en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, es necesario definir los mecanismos por los que los helmintos modulan el sistema inmunológico del hospedero. Otro aspecto relevante es identificar productos parasitarios que pueden ser empleados como biológicos, en lugar del parásito completo, para inducir los efectos positivos de la terapia helmíntica.

Resumen

En la actualidad, los parásitos helmintos constituyen un serio problema de salud, en especial en los países en vías de desarrollo, pero también en países desarrollados a los que migran personas provenientes de zonas en las que ciertas infecciones parasitarias son endémicas. Los helmintos han tenido éxito evolutivo al adaptarse al medio y colonizar nuevos nichos, incluido el ser humano, y han desarrollado estrategias que les hacen posible no sólo evadir el sistema inmunológico, sino también modificarlo a su favor y verse beneficiados cuando éste permite su establecimiento, crecimiento y reproducción. El tipo de respuesta inmunológica que comúnmente se asocia a la infección por helmintos es de tipo Th2 *permisiva* a la infección. Entre las proteínas del parásito que la inducen se encuentran los antígenos de expresión-secreción; algunos de éstos son capaces de inducir la producción de citocinas, IL-4, MIF e IL-10, y también la proliferación y diferenciación de linfocitos Treg y macrófagos M2. Lo anterior conlleva una modificación y modulación de la respuesta inmunológica del hospedero.

Con base en lo que explica la "hipótesis de la higiene", una aplicación en la medicina sería utilizar las proteínas de los helmintos en enfermedades de tipo autoinmune. Esta hipótesis propone que el decremento en la incidencia de infecciones con parásitos en los países desarrollados podría ser la causa del desarrollo de enfermedades alérgicas y autoinmunes, debido a una pérdida en la regulación de la respuesta inmunológica. Tal postulado puede interpretarse desde el punto de vista de que los helmintos han evolucionado para inmunomodular la respuesta inmunológica del hospedero. La respuesta tipo Th2 inducida por infecciones por helmintos puede suprimir la respuesta Th1, lo que confiere a los individuos infectados menor susceptibilidad a enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Diversos estudios epidemiológicos apoyan la "hipótesis de la higiene", así como gran cantidad de estudios en modelos murinos, en los que se ha demostrado que las infecciones con helmintos –por ejemplo, *Trichuris suis*, *T. spiralis*, *Necator americanus*, *Schistosoma mansoni*, *Heligmosomoides polygyrus* y *Hymenolepis diminuta*– pueden prevenir o suprimir enfermedades autoinmunes del tipo de diabetes tipo 1, encefalitis autoinmune experimental y colitis experimental, lo mismo que enfermedades alérgicas.

Para explotar el gran potencial de la terapia helmíntica en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, es necesario definir los mecanismos que utilizan los helmintos al modular el sistema inmunológico del hospedero, e identificar nuevas proteínas parasitarias de éstos que puedan emplearse como biológicos, en lugar del parásito completo.

Lecturas sugeridas

Finlay CM, Walsh KP, Mills, KH. Induction of regulatory cells by helminth parasites: Exploitation for the treatment of inflammatory diseases. *Immunological Review*. 2014;259(1):206-30.

Geurden T, Hoste H, Jacquiet P, Traversa D, Sotiraki S, Frangipane di Regalbono A, *et al*. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastrointestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Veterinary Parasitology*. 2014;201(1-2):59-66.

Hewitson JP, Grainger JR, Maizels RM. Helminth Immunoregulation: The role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2009;167(1):1-11.

Kuijk LM, Klaver EJ, Kooij G, Van der Pol SM, Heijnen P, Bruijns SC, *et al*. Soluble helminth products suppress clinical signs in murine experimental autoimmune encephalomyelitis and differentially modulate human dendritic cell activation. *Molecular Immunology*. 2012;51(2)210-8.

Larkin BM, Smith PM, Ponichtera HE, Shainheit MG, Rutitzky LI, Stadecker MJ. Induction and regulation of pathogenic Th17 cell responses in schistosomiasis. *Seminars in Immunopathology*. 2012;34(6):873-88.

Pritchard DI. Worm therapy: How would you like your medicine? *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2012;2:106-8.